

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2001年4月19日 (19.04.2001)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 01/26670 A1

- (51) 国際特許分類: A61K 35/78, 45/00, 7/00, 7/02, 7/42, A61P 17/16, 39/06 104-0033 東京都中央区新川1丁目23番1号 Tokyo (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP00/07134 (72) 発明者; および  
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 久野憲康 (KUNO, Noriyasu) [JP/JP]; 〒238-0026 神奈川県横須賀市小矢部 2-21-22-208 Kanagawa (JP). 松本美保 (MATSUMOTO, Miho) [JP/JP]; 〒249-0007 神奈川県逗子市新宿1-6-36 Kanagawa (JP).
- (22) 国際出願日: 2000年10月13日 (13.10.2000)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願平 11/293038 1999年10月14日 (14.10.1999) JP  
特願平 11/293039 1999年10月14日 (14.10.1999) JP
- (74) 代理人: 中村 稔, 外 (NAKAMURA, Minoru et al.); 〒100-8355 東京都千代田区丸の内3丁目3番1号 新東京ビル646号 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, (続葉有)
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 日清製油株式会社 (THE NISSHIN OIL MILLS, LTD.) [JP/JP];

(54) Title: SKIN-CARE AGENTS, SKIN ANTIAGING AGENTS, WHITENING AGENTS AND EXTERNAL SKIN PREPARATIONS

(54) 発明の名称: 美肌剤、皮膚の抗老化剤、美白剤および皮膚外用剤

(57) Abstract: External skin preparations containing an extract obtained from olive plant; and external skin preparations containing the above extract as a skin-care component, in particular, an antiaging component and/or a whitening component. This extract can be obtained by extracting olive plant and/or a product obtained in the process of producing olive oil with water and/or an organic solvent. Each effect can be further enhanced by concentrating and/or fractionating and purifying the extract. Skin-care agents, in particular, skin antiaging agents and whitening agents containing the above extract as the active ingredient.

(57) 要約:

本発明は、オリーブ植物から得られる抽出物を含有する皮膚外用剤に関し、また、該抽出物を美肌成分、特に抗老化成分および/または美白成分として含有する皮膚外用剤に関する。該抽出物はオリーブ植物および/またはオリーブ油製造工程で得られる生成物を水および/または有機溶媒で抽出処理して得ることができ、更に抽出物を濃縮処理および/または分画・精製処理することで、各効果が強化される。

また、該抽出物を有効成分とする美肌剤、特に皮膚の抗老化剤および美白剤に関する。

WO 01/26670 A1

BEST AVAILABLE COPY



PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ,  
UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

添付公開書類:

— 国際調査報告書

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW,  
MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM,  
AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許  
(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,  
LU, MC, NL, PT, SE), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI,  
CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される  
各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語  
のガイダンスノート」を参照。

## 明細書

## 美肌剤、皮膚の抗老化剤、美白剤および皮膚外用剤

## 発明の背景

本発明は、オリーブ (*Olea europaea* L.) 植物から得られる抽出物を含有する皮膚外用剤に関し、美肌効果、特に皮膚に対するシワ、たるみの予防・改善効果を有する皮膚の抗老化効果、皮膚の色黒やシミ、ソバカス、くすみを改善あるいは防止することができる美白効果を有する皮膚外用剤に関するものである。また、オリーブ植物から得られる抽出物を有効成分とする美肌剤や美白剤、皮膚の抗老化剤に関し、さらにはこれらを含有する皮膚外用剤に関する。

油脂、とりわけ不飽和脂肪酸を含む油脂は酸化されやすく、品質劣化、栄養性・機能性低下の大きな原因となる。不飽和脂肪酸の中でもリノール酸、リノレン酸およびアラキドン酸は必須脂肪酸として栄養素として重要な役割を果たしている。また近年、EPA, DHAなど高度不飽和脂肪酸の生理活性に注目され、これらを含む多くの飲食物などが上市されている。しかしこれらの不飽和脂肪酸は極めて酸化安定性に欠けるため、抗酸化剤の添加が必要となるが、長期間保存に有効な抗酸化剤は今のところ無いのが現状である。

生物は、酸素を利用することによって生存に必要なエネルギーを効率的に得ている。しかしながら、このようなエネルギー代謝のうち酸素が水に変換される過程で、中間体として活性酸素種が生じる。一般にこの活性酸素種としては、マクロファージの刺激などによって放出されるスーパーオキシド、放射線の被爆などによって生成されるヒドロキシラジカルなどが知られている。これらの活性酸素種は過度の放射線や紫外線の照射、化学物質やタバコの摂取等の外的誘因と虚血再還流、炎症、ストレス、老化等の内的要因が原因となって生成される。このよ

うにして生体内で過剰に生成された活性酸素種は、一般に化学的反応性が高く、生体内で隣接する脂質や核酸、蛋白質等の成分と容易に反応し、さまざまな疾病に繋がる酸化障害をもたらす。活性酸素種の一つであるスーパーオキシドは、さまざまな疾病と深い関わりがあることが明らかにされており、例えば動脈中のLDLは、スーパーオキシドによって酸化されて泡沫細胞を形成し、動脈硬化の原因を発生する。また放射線の照射によりもたらされるヒドロキシラジカルの産生は、発癌などの深刻な障害を生体に与える。(Halliwell B. and Gutteridge M.C., Biochem.J. 219, 1-14, (1984))。

このような活性酸素種の生体に対する毒性が明らかになるにつれ、これらを効率的に消去する活性を有する活性酸素種消去物質等の抗酸化剤は、生体内または食品や医薬品、農薬等に含まれる成分の酸化劣化の防御剤として有用であり、食品産業、特に水産加工品、健康食品、栄養食品のほか、医薬品・農薬分野や化粧品分野において実利的な利用が期待されているものである。

近年、抗酸化剤に限らず、化学合成品からなる食品添加物の安全性の問題に対する消費者の意識の高まっており、例えば、BHA（ブチルヒドロキシアニソール）やBHT（ブチルヒドロキシトルエン）等の化学合成抗酸化剤は、その使用が避けられる傾向にある。また、他の抗酸化剤も、植物油由来のトコフェロール類など油溶性（非水溶性）のものが多く、実際の使用に際しては制約を受けることが多い。

このような中、これまでさまざまな抗酸化剤が、主に天然物由来の原料から抽出され、その応用が検討されている。例えばスーパーオキシド消去活性を有するものとして酵素蛋白であるスーパーオキシドジスムターゼ（SOD）等が、ヒドロキシラジカル消去活性を有するものとしてマンニトール、トリプトファン、ギ酸等が挙げられている（例えば、大柳善彦「SODと活性酸素種調節剤-その薬理的作用と臨床応用」、第224～228頁、日本医学館、1989年）。



しかしながら、SODは酵素タンパクであるため、熱などに対する安定性が乏しく、また経口投与した場合、投与した酵素のほとんどは消化・排泄されてしまい、その実効力は極めて低かった。また、ヒドロキシラジカルを効率的に消去できる実用的なヒドロキシラジカル消去剤は現在のところ少ない。従って、これら抗酸化剤を工業的に多量に、かつ安定に入手することは困難なのが現状である。また、通常、前述のSODはスーパーオキシドに対してのみ消去効果を有し、ヒドロキシラジカルに対しては全く効果がない。同様にマンニトールはスーパーオキシドを消去することができない。

消費者からの要望が強い、天然物由来で抗酸化効果を有する原料としては、例えば、ゴマ種子中の水溶性の抗酸化成分として、ゴマ脱脂粕等から得られる水溶性抽出物が抗酸化活性を有することが知られている（特公昭61-26342号公報等）。また、この脱脂粕抽出物にはリグナン配糖体類が含まれることがよく知られており、そのリグナン配糖体類が強力なヒドロキシラジカル消去活性を有することが知られている（特開平8-208685号公報等）。しかし、このゴマ種子等に含まれるリグナン配糖体はスーパーオキシドに対する消去活性は強いものとはいえない。

このような中、1種類の活性酸素種に対する消去活性だけでなく、スーパーオキシドとヒドロキシラジカルなど、複数種類の活性酸素種に対する強力な消去活性を有する、天然物由来の有効成分の安定供給が望まれているにも関わらず、これまで工業的に実用化された例は少ない。しかも、両活性を有する有効成分の供給はほとんど無いといってよく、これらの安定的な供給が期待されている。

一方、皮膚に対して、ハリ、ツヤを与え、シワやたるみの発生を防止する、いわゆる皮膚の老化防止を目的とする化粧料は種々のタイプの製品が提案されている。代表的なものとしては、多価アルコール類（グリセリン、ソルビトール等）、ヒアルロン酸、コラーゲン、エラスチン、天然保湿因子（Natural Moisturizing

Factor ; 例えばアミノ酸、乳酸塩、ピロリドンカルボン酸ソーダ、尿素等)、細胞間脂質(スフィンゴ脂質、リン脂質、コレステロール等)、皮脂類似物質(オリーブ油、ホホバ油、スクワラン等)等の保湿成分を配合した化粧料、またビタミンA、ビタミンC、ビタミンEおよびその誘導体、ビタミンF(リノール酸)、ビタミンH(グルタチオン)等のビタミン類、ホルモン類、植物抽出物(グリチルリチン、 $\beta$ -カロチン等)、動物抽出物(ブラセンタリキッド、ローヤルゼリー等)等の細胞賦活成分を配合した化粧料がある。また、皮膚のシミやシワを目立たなくするように、表面処理を施したチタン粉末やタルク粉末を配合した化粧料もこれに該当する。

一般的に皮膚の老化現象の目安となる皮膚のシワやたるみを形成する主な原因として、皮膚の真皮組織における構成成分の質的および量的変化が大きく影響を及ぼすといわれている。すなわち真皮組織には繊維性蛋白成分としてコラーゲン繊維と弾性繊維(エラスチン)の2種類のものが存在するが、これらが種々の外的または内的要因によって蛋白質変性をおこし、これにともないそれらの弾性力が低下して結果的にシワやたるみが生じると考えられている。

この蛋白質変性を引き起こす要因の一つにコラーゲン繊維間の架橋結合がある。この架橋結合は、幼若期のうちはコラーゲン繊維としての強度を増すために重要であり、架橋酵素によって促進される。しかし、それが十分に成熟した後にも生体にとって必要とされない架橋がコラーゲン繊維間で非酵素的に生成される。現在、この生成段階において活性酸素が関与していることが知られている(広瀬統ら、J.Soc.Cosmet.Chem.Japan, 第26巻(No.4)第289~294頁、1993年等)。

コラーゲンは繊維芽細胞において産出され、繊維芽細胞自らが産生する酵素によって分解する。この産出と分解のバランスによりコラーゲンの量は組織内で適切に維持されていると考えられるが、皮膚の日光露出部いわゆる光加齢皮膚にお

いては、その組織中のコラーゲン量が著しく減少することが知られている。これに関連して、岡田らは、活性酸素が繊維芽細胞に対して作用してそのコラーゲン産生能を低減させ、さらにそのコラーゲン分解能を促進させることを知見として得ており、活性酸素の影響により皮膚組成中のコラーゲン含量が減少することを示唆している（岡田 富雄、香粧会誌、第17巻（No. 4）、第202～206頁、1993年）。

さらに、前記繊維性成分の間は組織間基質つまりムコ多糖類（主にヒアルロン酸）で埋められているが、活性酸素が作用するとムコ多糖類の断片化（低分子化）現象が生じることが知られている（柏村 直樹著、「活性酸素」、第464～468頁、共立出版、1990年）。

なお、活性酸素にはスーパーオキシド（ $O_2^-$ ）、一重項酸素（ $^1O_2$ ）、ヒドロキシラジカル（ $\cdot OH$ ）、過酸化水素（ $H_2O_2$ ）等があるが、このうちヒドロキシラジカルは反応性が高く、生物障害作用が最も大きいと考えられている。これに関連して田中らは、コラーゲンとグルコースとがメイラード反応を起こし、コラーゲンが架橋を生じる実験系を用い、これに種々の活性酸素の消去剤を添加し、コラーゲン架橋の抑制効果を調べている。その結果、スーパーオキシドおよび一重項酸素の消去剤には該効果がなく、ヒドロキシラジカル消去剤にコラーゲン架橋抑制効果のあることを認めている。また同時に、種々の活性酸素を用いてヒアルロン酸の断片化に及ぼす影響を調べた結果、ヒドロキシラジカルが最も作用することを認めている。（田中 弘ら、香粧会誌、第17巻（No. 4）、第207～213頁、1993年）

活性酸素が生体内成分の酸化や生体の老化の要因の一つとして深く関わっていることはよく知られており、皮膚においても他臓器と同様に、活性酸素の影響を受ける。皮膚は常に外界と接しており、常に強い酸化ストレスに曝されている部位である。そのため、皮膚はこの不断の酸化ストレスに対し、各種の防御機構

を具備している。例えば、角層は紫外線を反射、吸収、散乱する物理的光防御を果しており、また表皮には、産生された活性酸素を消去するために、スーパーオキシドジスムターゼ（SOD）に代表されるような、各種の生体内抗酸化物質が存在する。例えば、アミノ酸のひとつであるトリプトファンは、紫外線照射によりスーパーオキシドを発生することが知られているが、この生体内SODの作用により、不活性化される。このように通常の状態においては、各種の酸化反応の進行は未然に防がれているが、例えば過度の日焼け等、異常な酸化ストレスによってこの防御機構が破壊されると皮膚炎や色素増加、皮膚ガンなどの原因になる他、継続的な酸化ストレスにより皮膚の老化等の現象が引き起こされる。

以上に述べたように、活性酸素の発生を防止し、またこれを除去することが皮膚のシワやたるみの形成といった皮膚の老化防止に有効であると考えられる。しかしながら、ヒドロキシラジカル消去剤としては、マニトール、トリプトファン、チオ尿素、ギ酸、アルコール等が知られているにすぎず、また微量で実用的に効果のあるヒドロキシラジカル消去剤はほとんどなく、これを工業的に多量かつ安定に入手することは困難であるのが現状である。

さらに、皮膚の色黒やシミ、ソバカスは、一般に日光の紫外線暴露による刺激、ホルモンの異常又は遺伝的要素等によってメラノサイトが活性化され、その結果メラノサイトにて合成されたメラニン色素が皮膚内に異常沈着することにより発生する。このようなメラニン色素の異常沈着を改善あるいは防止することを目的として、L-アスコルビン酸もしくはその誘導体、ハイドロキノン誘導体、グルタチオンやコロイドイオウ等の美白剤の開発がこれまでなされてきた。しかしながら、これらの美白剤には微弱なメラニン生成抑制機能しかないものや、酸化されやすく不安定なもの、さらに特有の異臭や沈殿が生じるものがあるといった問題があり、それぞれ単独で化粧品に配合した場合、皮膚に対する美白効果が必ずしも十分とはいえなかった。従って、効果が高く、安全かつ安定で肌の色黒、シ

ミ、ソバカス、くすみを改善あるいは防止できる皮膚に対する美白効果を有する美白剤の開発が現在求められている。

一方、古来から食経験豊かな植物の一つにモクセイ科、オリーブ属のオリーブ植物がある。オリーブは古くから栽培されてきた植物で、現在では地中海沿岸が代表的な栽培地域である。用途としては、特にオリーブ油として重宝されており、欧州はもちろん、日本や米国を初めとする世界各国で用いられている。オリーブ油は様々な効果を有することが知られており、古来から経験的に薬用あるいは化粧用としても用いられてきた。また、オリーブの実はそのまま食用にも用いられ、場合によっては、保存食として塩蔵されたりしている。このことから、オリーブは、安定的に入手可能で、また人体にとって安全性の高い植物材料であるといえる。しかしながら、オリーブ油を搾油した際に残るオリーブ油粕は、肥料や燃料用として用いられているに過ぎなかった。

近年、オリーブ油に関しては、比較的酸化されにくい植物油であることが知られており、その中に含まれる微量成分のポリフェノール類が注目され、その生理的作用等について多くの研究がなされている（例えば、International Olive Oil Council, New Food Industry, Vol.34, No.4, 28-52, 1992）。しかしながら、オリーブに関してはオリーブ油以外についてはあまり知られておらず、特にオリーブ植物中の抽出成分が強い活性酸素除去機能、優れたメラニン生成抑制機能を有すること、さらに、該抽出物を含有する皮膚外用剤が優れた美白効果や皮膚抗老化効果等の美肌効果を有することは、これまで、全く知られていなかった。

#### 発明の開示

本発明は、美肌効果、特に皮膚に対してハリ、ツヤを与え、シワやたるみ等の形成という皮膚の老化を予防・改善できる皮膚抗老化効果や、皮膚の色黒やシミ、ソバカス、くすみ等を予防・改善できる優れた美白効果を有し、かつ、安定

で、人体に対する安全性が高い皮膚外用剤を提供することを目的とし、また、同様に優れた効果を有する美肌剤、美白剤および皮膚の抗老化剤を提供することを目的とする。

本発明者らは、前記目的を達成するため鋭意検討した結果、オリーブ植物から得られる抽出物を含有する皮膚外用剤が優れた美肌効果、特に皮膚に対してハリ、ツヤを与え、シワやたるみ等の形成という皮膚の老化を予防・改善できる皮膚抗老化効果や、皮膚の色黒やシミ、ソバカス、くすみ等を予防・改善できる優れた美白効果を有することを見だし、本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明は、オリーブ植物から得られる抽出物を含有する皮膚外用剤に関し、好ましくはオリーブ植物から得られる抽出物を美肌成分として含有する皮膚外用剤に関し、また、美白成分および／または皮膚の抗老化成分として含有する皮膚外用剤に関する。また、次の成分（A）及び、（B）から選ばれる薬効剤の一種又は二種以上を含有することを特徴とする皮膚外用剤に関する。

（A）オリーブ植物から得られる抽出物

（B）美白剤、抗酸化剤、抗炎症剤、細胞賦活剤、紫外線防止剤、血行促進剤、保湿剤

ここで、抽出物はオリーブ植物および／またはオリーブ油製造工程で得られる生成物を水および／または有機溶媒で抽出処理して得ることができ、更に抽出物を濃縮処理および／または分画・精製処理することで、各効果が強化される。

また、オリーブ植物から得られる抽出物を有効成分とする美肌剤に関する。これは、皮膚を気になる部分に直接塗布しても良く、皮膚外用剤の原料として用いても良い。ここで、抽出物はオリーブ植物および／またはオリーブ油製造工程で得られる生成物を水および／または有機溶媒で抽出処理して得ることができ、更に抽出物を濃縮処理および／または分画・精製処理することで、効果が強化された美肌剤を得ることができる。

本発明は、オリーブ植物から得られる抽出物を有効成分とする美白剤に関する。これは、皮膚を美白する目的で直接塗布しても良く、皮膚外用剤の原料として用いても良い。ここで、上記同様に抽出物はオリーブ植物および／またはオリーブ油製造工程で得られる生成物を水および／または有機溶媒で抽出処理して得ることができ、更に抽出物を濃縮処理および／または分画・精製処理することで、効果が強化された美白剤を得ることができる。

さらには、オリーブ植物から得られる抽出物を有効成分とする皮膚の抗老化剤に関する。これも、気になる部分に直接塗布することもでき、また、皮膚外用剤の原料として用いても良い。上記同様に抽出物はオリーブ植物および／またはオリーブ油製造工程で得られる生成物を水および／または有機溶媒で抽出処理して得ることができ、更に抽出物を濃縮処理および／または分画・精製処理することで、効果が強化された皮膚の抗老化剤を得ることができる。

また、本発明は前記美肌剤を含有する皮膚外用剤に関し、好ましくは前記美白剤および／または前記皮膚の抗老化剤を含有する皮膚外用剤に関する。

本発明はまた、オリーブ植物から得られる美白効果を有する抽出物に関する。

本発明はまた、オリーブ植物から得られる皮膚に対する抗老化効果を有する抽出物に関する。

#### 発明を実施するための最良の形態

以下に、本発明について詳細に説明する。

本発明は、オリーブ植物の、主に実または種子、さらに、果皮、種皮、葉、茎、芽等から、また、これらの乾燥物、粉碎物、脱脂されたものから得られる抽出物を含有する皮膚外用剤に関する。該抽出物は強い活性酸素除去機能、特にスーパーオキシドやヒドロキシラジカルを同時に効果的に消去し得る活性酸素除去機能や、非常に優れたメラニン生成抑制機能を有するが、本発明の皮膚外用剤は該抽

出物を含有することにより、優れた美肌効果、特には皮膚に対してハリ、ツヤを与え、シワやたるみ等の形成という皮膚の老化を予防・改善できる皮膚抗老化効果や、皮膚の色黒やシミ、ソバカス、くすみ等を予防・改善できる優れた美白効果を有する。

本発明の皮膚外用剤に用いる抽出物は、オリーブ植物から得られるが、特にオリーブ植物の実および／または種子から好適に得ることができ、また、脱脂されたオリーブ植物の実および／または種子から得られる抽出物は余計な油分等を除去する必要がないため好ましい。

また、オリーブ植物にはオリーブ油の製造工程において生じる生成物、例えば压榨残渣、抽出残渣、压榨油、抽出油、脱ガム油滓、脱酸油滓、ダーク油、廃脱色剤、脱臭スカム、搾油ジュース、排水、廃濾過材を含むものとする。例えば、压榨残渣や抽出残渣等の搾油粕はもちろん、油滓や通常は廃棄しているオリーブ油の搾油工程中で生じる排水からも抽出物を得ることができる。オリーブの有効活用の面からも好ましいといえる。

本発明の皮膚外用剤はオリーブ植物から得られる抽出物を含有する皮膚外用剤に関し、該抽出物を美肌成分として含有する皮膚外用剤に関し、特には美白成分および／または皮膚の抗老化成分として含有する皮膚外用剤に関する。また、該抽出物と美白剤、抗酸化剤、抗炎症剤、細胞賦活剤、紫外線防止剤、血行促進剤、保湿剤から選ばれる薬効剤の一種又は二種以上を含有することを特徴とする皮膚外用剤に関する。本発明の皮膚外用剤で用いる抽出物は、スーパーオキシド消去活性、ヒドロキシラジカル消去活性に優れる等、強い活性酸素除去機能および、強いメラニン生成抑制機能を有することから、該抽出物を含有する皮膚外用剤は美肌効果を有するものであり、特に優れた美白効果および／または皮膚の抗老化効果を有するものである。さらには、前記機能から該皮膚外用剤の保存性が向上する等の酸化防止効果も得られる。つまり、本発明の皮膚外用剤は優れた天然成



分、特に美肌効果を有する成分を有する皮膚外用剤である。また、美肌効果として特に美白・皮膚への抗老化効果を有する成分を含有する皮膚外用剤であり、紫外線暴露による刺激やホルモン異常、あるいは、遺伝的要素等によってメラノサイトが活性化され、メラノサイトにて合成されたメラニン色素が異常沈着する等の要因により発生する皮膚の色黒やシミ、ソバカス、くすみを改善あるいは防止する美白効果や、皮膚のシワ、たるみ等の予防・改善という皮膚の抗老化効果を有するものである。本抽出物の配合量は特に制限されず、その皮膚外用剤の求める各効果の強さに応じて好適な量の抽出物を配合することができる。

また、好ましくは上記オリーブ植物等から水および／または有機溶媒で抽出することで得られる抽出物を含有する皮膚外用剤に関し、好ましくは前記有機溶媒が親水性有機溶媒であり、さらに好ましくは前記親水性有機溶媒がアルコールである場合の抽出物を含有する皮膚外用剤に関する。

本発明の皮膚外用剤に含有される抽出物は優れた活性酸素除去機能を有するが、さらに、その単位原料あたりの収率も高い。この双方のことから、本抽出物は、活性酸素除去機能の強さに、単位原料あたりの収率を乗じた活性酸素除去機能収量指数について、他の天然原料を用いた場合に比べて、大幅に高い値が得られる。スーパーオキシド消去活性に関していえば、単位原料から得られる抽出物のスーパーオキシド消去活性収量指数が100以上、およそ100～3250程度であり、例えば、ゴマと比較した場合、1～650倍という高い値である。本発明によれば、強い抗酸化効果および皮膚への抗老化効果を有する抽出物を収率良く得ることができる。

また、本抽出物は、優れたメラニン生成抑制機能を有するが、優れたメラニン生成抑制機能を有する美白剤として公知のアルブチンと比較しても同等以上のメラニン生成抑制機能を有する。アルブチンをポジティブコントロールとした時のメラニン生成抑制機能指数で表わすと、本抽出物のメラニン生成抑制機能指数は

粗抽出レベルでも0.5～5程度であり、更に濃縮処理および／または分画・精製処理した場合には10～50程度であり、非常にメラニン生成抑制機能が強い。さらに、本抽出物は、アルブチンに比べ、B-16メラノーマ細胞に対する毒性が非常に低いことから、皮膚への毒性が低いと考えられる。つまり、本抽出物は、皮膚への悪影響が少なく安全でといえる。また、アルブチン等に比べ細胞への毒性が低いため、例えばこれらの既存の美白剤よりも多量に皮膚へ塗布することも可能である。よって、実際に皮膚へ使用した場合に与えることが可能な美白効果はアルブチン等に比べても更に高いといえる。皮膚に対する美白効果と実際に皮膚に塗布できる量を勘案した実質メラニン生成抑制機能指数も、アルブチンと比較した場合、粗抽出レベルでも1～10程度であり、更に濃縮処理および／または分画・精製処理した場合には10～50程度であり、実際に皮膚に与えられる美白効果は高い。また、これは化粧品等へ高濃度で配合することができるということでもあるので、本抽出物を配合した化粧品等は、皮膚に対する美白効果が高い。

さらに、本抽出物は濃縮処理および／または分画・精製処理されたものが好ましい。濃縮処理としては、水および／または有機溶媒に対する溶解性を利用した可溶分回収処理および／または不溶分回収処理、水-疎水性有機溶媒での液々分配処理、再結晶処理、再沈殿処理、冷却により生じた析出物を回収する処理等を行うことができ、分画・精製処理としては、再結晶、再沈殿、順相および／または逆相クロマトグラフィーによる精製、脱色処理、脱臭処理等を行うことができる。従って、本発明はまた、脱色又は／及び脱臭処理された、美白効果又は皮膚に対する抗老化効果を有する抽出物に関する。

この濃縮・精製処理等により、本抽出物の活性酸素除去機能、メラニン生成抑制機能等が向上することで、2次的に得られる効果である美肌効果、美白効果、皮膚への抗老化効果や酸化防止効果が向上する。例えば、水への溶解性を利用す

る方法で濃縮処理された場合、粗抽出物の数倍の皮膚に対する美白効果を有することになり、例えばメラニン生成抑制機能指数（アルブチンを基準として相対値化したもの）をアルブチンと比べると8～20という非常に優れた皮膚に対する美白効果を有するものとなる。また、分画・精製処理としてさらに各効果を向上させる処理をすることができ、また、脱色・脱臭等の処理をして無色、無臭にすることにより使用性を向上させることもできる。この場合、色や臭いによる制限を受けることなく幅広い分野で、幅広い用途に使用することができるので好ましい。

抽出処理と濃縮処理および／または精製処理の組み合わせは特に制限はされないが、例えば、オリーブ植物を水および／または親水性有機溶媒で抽出処理した後、得られた抽出液について、親水性有機溶媒の一部または全部を除去し、水層部に析出した水不溶分を回収することで濃縮する。析出した水不溶分は、ろ過や遠心分離等によって回収することができるが、この回収効率の向上のため、必要に応じ水溶液に対して水を添加・攪拌等の処理を行うことができる。また、オリーブ植物から得られる抽出液の水および／または親水性有機溶媒を除去した乾固状態の抽出物についても、上記同様に水を添加・攪拌等の処理を行い、ろ過等によりその水不溶分を回収することで濃縮処理することができる。これらの濃縮物を順相および／または逆相クロマトグラフィーおよび／または再結晶にて分画・精製処理することができる。

また、本発明はオリーブ植物から得られる抽出物、好ましくは濃縮処理および／または分画・精製処理された抽出物を有効成分とする美肌剤、特に美白剤および／または皮膚に対する抗老化剤に関する。濃縮処理および／または分画・精製処理の条件を調整することにより、それぞれの効果を強化・調整することができる。該美肌剤や、美白剤および皮膚の抗老化剤は、目的の効果をj得るために直接皮膚に塗布することもでき、また、皮膚外用剤の原料として配合することもでき

る。

更には、本発明は前記美肌剤を含有する皮膚外用剤に関し、また、前記美白剤および／または皮膚の抗老化剤を含有する皮膚外用剤に関する。該皮膚外用剤は上述した皮膚外用剤と同様の効果を有する。

ここで、当該抽出物は、オリーブという植物由来のものであるので、人体および皮膚への安全性に優れ、かつ、一般的な植物であるので安定的な供給が可能である。

本発明の原料として用いるオリーブ植物 (*Olea europaea* L.) は、国産、欧州産などの産地、食用あるいは搾油用を問わず使用できる。本発明の皮膚外用剤で用いる抽出物は、天然植物であるオリーブ植物の、主に実または種子から得ることができ、さらに、その果皮、葉、茎、芽から得ることができる。また、これらの乾燥物、粉碎物、脱脂物からも好適に得ることができる。

また、上記オリーブ植物の果実やその脱脂物等に、添水する等により加水した場合、蒸気により蒸す等の加湿処理を行った場合、これらオリーブ植物の果実やその脱脂物等が適度に膨潤するので、抽出効率が良くなり好ましい。

特に、オリーブ植物の脱脂物には抽出物が高濃度で存在するため、該脱脂物からは、抽出物が非常に高い収率で得られ、得られた抽出物から油分を除去する必要があるため好ましい。従って、本発明はまた脱脂されたオリーブ植物から得られる、美白効果又は皮膚に対する抗老化効果を有する抽出物に関する。

また、オリーブ植物または当該脱脂物に含まれる脂質成分をペンタン、ヘキサン、ヘプタン等の炭化水素、酢酸エチルエステル等の低級脂肪酸アルキルエステル、ジエチルエーテル等の公知の非水溶性の有機溶媒の1種又は2種以上で抽出除去し、更に必要に応じてこの洗浄処理を繰り返した脱脂物も利用できる。

オリーブ植物から水および／または有機溶媒で抽出することにより、本発明の皮膚外用剤で用いる抽出物を得ることができる。好ましくは、オリーブ植物から

水、含水アルコール、無水アルコール、アセトン、テトラヒドロフラン、アセトニトリルから選ばれる1種又は2種以上により、本発明の美白又は皮膚に対する抗老化効果を有する抽出物を得ることができる。

オリーブ植物から本発明の皮膚外用剤で用いる抽出物を得るために用いる有機溶媒としては、親水性有機溶媒、疎水性有機溶媒のいずれでもよい。具体的には、親水性有機溶媒として、メチルアルコール、エチルアルコール、1-プロパノール、1-ブタノール等の1級アルコール、2-プロパノール、2-ブタノール等の2級アルコール、2-メチル-2-プロパノール等の2級アルコールさらにエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール、1, 3-ブチレングリコール等の液状多価アルコール、アセトン、テトラヒドロフラン、アセトニトリル、1, 4-ジオキサン、ピリジン、ジメチルスルホキシド、N, N-ジメチルホルムアミド、酢酸等の公知の有機溶媒が挙げられ、疎水性有機溶媒として、ヘキサン、シクロヘキサン、四塩化炭素、クロロホルム、ジクロロメタン、1, 2-ジクロロエタン、ジエチルエーテル、酢酸エチル、ベンゼン、トルエン等の公知の有機溶媒が挙げられる。また、これらの有機溶媒は1種または2種以上を組み合わせて使用することができる。

工業的には、例えば植物組織への浸透性、抽出効率等からは、水および/または親水性有機溶媒を用いることが好ましく、また含水親水性有機溶媒を用いることが好ましい。具体的にはメチルアルコール、エチルアルコール、グリセリン、プロピレングリコール、1, 3-ブチレングリコール等のアルコール、アセトン、テトラヒドロフラン、アセトニトリル等の有機溶媒およびこれらの含水溶媒が挙げられる。これらの中から選ばれる、1種または2種以上により、オリーブ植物から、本発明の皮膚外用剤で用いる抽出物を得ることができる。

水、含水低級アルコール、無水低級アルコールのいずれかにより抽出することがより好ましい。

各機能を有する抽出成分の溶解性についての特性を利用すると、活性酸素除去機能を有する抽出物を得るには、水および／または親水性有機溶媒、好ましくは含水親水性有機溶媒、さらに好ましくは含水率の高い含水親水性有機溶媒を用いた抽出が好ましい。

また、メラニン生成抑制機能を有する抽出物を得るには、水および／または親水性有機溶媒、好ましくは含水親水性有機溶媒、さらに好ましくは含有有機溶媒率の高い含水親水性有機溶媒を用いた抽出が好ましい。また、疎水性の有機溶媒を用いても良く、特定の溶媒の組み合わせにより溶解性を向上させた溶媒を用いてもよい。

抽出条件は、特に限定されないが、例えば、温度は5℃～95℃、好ましくは5～60℃、より好ましくは10℃～90℃、さらに好ましくは15℃～85℃で、常温でも好適に抽出することができる。温度が高いほうが、抽出効率が高くなる傾向がある。圧力は、常圧でも、加圧でも、吸引等による減圧でも好適にすることができる。また、抽出効率を向上させるため、振とう抽出や、攪拌機等のついた抽出機でも抽出することができる。抽出時間は、他の抽出条件によるが、数分～数時間であり、長時間なほど十分な抽出がなされるが、生産設備、収率等の生産条件によって適宜決めれば良い。

また、抽出に使用する溶媒は、原料に対し1～100倍量（「質量／質量」。以下同様。）、好ましくは1～20倍量を使用することができる。

得られる抽出物の収率およびその後の回収方法を考慮すると、水および／または親水性有機溶媒を用いることが好ましく、また含水親水性有機溶媒を用いることが好ましい。特に、含水アルコールを使用するのが好ましく、含水低級アルコールを使用するのがより好ましい。

また含水親水性有機溶媒での抽出処理する場合には、親水性有機溶媒含量が10質量％～95質量％である含水親水性有機溶媒で抽出することが好ましく、さ

らには親水性有機溶媒含量が20質量%～95質量%の含水親水性有機溶媒を使用することが好ましく、最も好ましくは親水性有機溶媒含量が30質量%～95質量%に調製された含水親水性有機溶媒であることが好ましい。

また、得られる抽出物が有する活性酸素除去機能の強さをも考慮に入れた場合、含水親水性有機溶媒での抽出において、親水性有機溶媒含量が10質量%以上である含水親水性有機溶媒で抽出することが好ましく、さらには親水性有機溶媒含量が40質量%以上の含水親水性有機溶媒を使用することが好ましく、最も好ましくは親水性有機溶媒含量が40質量%～80質量%に調製された含水親水性有機溶媒であることが好ましい。

また、得られる抽出物が有するメラニン生成抑制機能の強さをも考慮に入れた場合、含水親水性有機溶媒での抽出において、親水性有機溶媒含量が10質量%以上含水親水性有機溶媒で抽出することが好ましく、さらには親水性有機溶媒含量が10質量%～95質量%の含水親水性有機溶媒を使用することが好ましく、最も好ましくは親水性有機溶媒含量が30質量%～95質量%に調製された含水親水性有機溶媒であることが好ましい。

また、皮膚への塗布を考えた場合の人体への安全性等を考えれば、水、含水低級アルコール、無水低級アルコールのいずれかにより抽出するのが好ましい。また、水および／またはアルコールのいずれかにより抽出することが好ましい。

得られる抽出物の収率およびその後の回収の面からは、水および／またはアルコールを用いることが好ましく、また含水アルコールを用いることが好ましい。

また含水アルコールでの抽出処理する場合には、アルコール含量が10質量%～95質量%である含水アルコールで抽出することが好ましく、さらにはアルコール含量が20質量%～95質量%の含水アルコールを使用することが好ましく、特にアルコール含量が20～80質量%の含水アルコールを使用するのが好ましく、最も好ましくはアルコール含量が30質量%～95質量%に調製された含水

アルコールであることが好ましい。特に、該アルコールが低級アルコールであるのが好ましい。

また、得られる抽出物が有する活性酸素除去機能の強さをも考慮に入れた場合、アルコール含量が10質量%以上である含水アルコールで抽出することが好ましい。さらにはアルコール含量が40質量%以上の含水アルコールを使用することが好ましく、最も好ましくはアルコール含量が40質量%～80質量%に調節された含水アルコールが好ましい。特に、該アルコールが低級アルコールであるのが好ましい。

また、得られる抽出物が有するメラニン生成抑制機能の強さをも考慮に入れた場合、アルコール含量が10質量%以上である含水アルコールで抽出することが好ましい。さらにはアルコール含量が10質量%～95質量%の含水アルコールを使用することが好ましく、最も好ましくはアルコール含量が30質量%～95質量%に調節された含水アルコールが好ましい。特に、該アルコールが低級アルコールであるのが好ましい。

ここで、本発明で使用するアルコールは、メチルアルコール、エチルアルコール、1-プロパノール、1-ブタノール等の1級アルコール、2-プロパノール、2-ブタノール等の2級アルコール、2-メチル-2-プロパノール等の3級アルコールさらにエチレングリコール、プロピレングリコール、1,3-ブチレングリコール等の液状多価アルコール等の公知の溶媒が挙げられ、これらの溶媒は1種または2種以上を組み合わせ使用することができる。

工業的には、生産コストの面、および、蒸留による溶媒除去等のハンドリングの面から見ても、特に低級アルコールを使用することが好ましい。

ここで、低級アルコールとは、炭素数が1～4である公知のアルコール、例えば、前述の1、2、3級、もしくは、液状多価のアルコール等があげられ、これらの1種または2種以上を組み合わせ使用することができる。



その他、オリーブ油の製造工程において生じる生成物、例えば圧搾残渣、抽出残渣、圧搾油、抽出油、脱ガム油滓、脱酸油滓、ダーク油、廃脱色剤、脱臭スカム、搾油ジュース、排水、廃濾過材もオリーブ植物に含まれ、これらからも活性酸素除去機能、メラニン生成抑制機能を有する本抽出物が得られる。オリーブの有効活用の面からも好ましい抽出物の製造方法である。

ここで、オリーブ油の搾油工程で生じる排水からも本抽出物が有する活性酸素除去機能に加え、メラニン生成抑制機能を有する抽出物を得ることができる。特に、オリーブ油を搾油するに際し、オリーブ実を圧搾すると油分と水分を含んだジュースと呼ばれるものが得られ、これから水分を除去し、オリーブ油を得るが、この水相部分中に生じた析出物を回収することで好適に皮膚に対するメラニン生成抑制機能、腫瘍細胞増殖抑制・死滅機能を有する抽出物が得られる。

このように、水および／または有機溶媒を用いた抽出により、活性酸素除去機能、メラニン生成抑制機能を有する抽出液を製造できる。

また、本発明の皮膚外用剤に用いる抽出物の水可溶性等の成分は、抗酸化効果、皮膚に対する抗老化効果が強く、より難水溶性および／または油溶性の抽出物では、皮膚に対する美白効果が強い。

このようにして得られた抽出液から、溶媒、水分を除去することで、本発明の皮膚外用剤に用いる乾固状の抽出物を得ることができる。

溶媒、水分の除去は減圧蒸留、減圧・真空乾燥、凍結乾燥、スプレードライ等の公知の方法で行うことができる。

もちろん、溶媒、水分を含んだままでも良く、また、溶媒のみ除去して水溶液状のものを得ることもできる。さらに、溶媒、水分除去の程度を調整することで抽出物の濃度が調整された、つまり、活性酸素除去機能、メラニン生成抑制機能の強さが調整された、活性酸素除去機能、メラニン生成抑制機能を有する水溶液を調製することもできる。

また、本発明の製造方法によれば、原料単位あたり、活性酸素除去機能、メラニン生成抑制機能等を有する抽出物を他の天然原料に比べても高い収率で、例えばゴマを用いた場合に比べて1～10倍の収率で得ることができる。従って、本発明はまた、メラニン生成抑制機能指数及び実質メラニン生成抑制機能指数が5以上である上記抽出物の製造方法に関する。

また、脱脂物からの抽出物は、トリグリセライド、ステロール、トコフェロール等の油溶性成分は含有していないので、これらを除去、精製する必要がないため、好ましい。

また、オリーブ油の製造工程において生じる生成物、例えば圧搾残渣、抽出残渣、圧搾油、抽出油、脱ガム油滓、脱酸油滓、ダーク油、廃脱色剤、脱臭スカム、搾油ジュース、排水、廃濾過材からも活性酸素除去機能、メラニン生成抑制機能を有する抽出物が得られるので、オリーブの極めて優れた有効利用方法であり、生産コストの面から見ても優れた方法といえる。

これらの抽出物はそのまま用いても良いが、必要によりさらに濃縮処理および／または分画・精製処理したものを用いることができる。濃縮精製したものをを用いることもできる。

濃縮処理については、特に限定されないが、例えば濃縮処理が、水および／または有機溶媒に対する溶解性を利用した可溶分回収処理および／または不溶分回収処理、水-疎水性有機溶媒での液々分配処理、再結晶処理、再沈殿処理、冷却により生じた析出物を回収する処理から選ばれる1種または2種以上の処理により、好適に濃縮処理することができる。特に、水への溶解性を利用して濃縮処理及び／又は分画・精製処理された抽出物は、強いメラニン生成抑制機能を有するので好ましい。

例えば、水への溶解性を利用した濃縮方法を用いることによって、水に容易に溶ける成分、つまり水可溶性等の成分と、水に溶解しにくいおよび／または水に

溶解しない成分、つまり難水溶性等の成分に分離することができる。ここで、水可溶性等の成分の濃縮物は、難水溶性等の成分に比べ、活性酸素除去機能が高いことが見出され、一方、難水溶性等の成分の濃縮物は水可溶性等の成分の濃縮物に比べ、大幅にメラニン生成抑制機能が高いことが見出された。

また、濃縮方法の一つとして、オリーブ植物より得られた抽出液から、溶媒除去する過程において、濃縮物を容易に得ることができる。すなわち、溶媒のみを除去した水溶液において、水可溶分と水不溶分をろ過処理、遠心処理、デカンテーション処理等により分離し、それぞれを脱水・乾燥させることで、強い活性酸素除去機能を有する水可溶性等の濃縮物と、強いメラニン生成抑制機能を有する難水溶性等の濃縮物を別々に得ることができる。

このように、1回の濃縮工程で抗酸化効果、皮膚に対する抗老化効果が高い濃縮物と、皮膚に対する美白効果が高い濃縮物を得られることから、効率面でも非常に優れた濃縮方法であるといえる。

また、オリーブ植物から抽出し乾固した抽出物に水を添加・攪拌することで、水に溶解しにくい成分および／または水に溶解しない成分、つまり難水溶性等の成分と水に容易に溶ける成分に分けることで、大幅に濃縮することができる。本抽出物は活性酸素除去機能、メラニン生成抑制機能を有する。ここで、抽出物中の水に容易に溶ける成分、つまり水可溶性等の成分と、水に溶解しにくいおよび／または水に溶解しない成分、つまり難水溶性等の成分に分離することができるが、水可溶性等の成分の濃縮物は、活性酸素除去機能が高く、一方、難水溶性等の成分の濃縮物は、大幅に皮膚に対する美白効果が高いことが見出されている。

オリーブ植物からの抽出物に含まれる水可溶性等の濃縮物は、オリーブ植物からの抽出物全体や、抽出物中の難水溶性等の成分と比べても、抗酸化効果、皮膚に対する抗老化効果が大幅に優れていることが確認された。また、難水溶性等の成分は、オリーブ植物からの抽出物全体や、抽出物中の水可溶性等の濃縮物と比

べても、メラニン生成抑制機能が大幅に優れていることが確認された。

このように、水可溶性等の濃縮物、または、難水溶性等の濃縮物は、オリーブ植物からの抽出物を水に添加・攪拌した後、析出している部分をろ過等により採取することで簡易に得ることができる。また、水の量や温度を調整することで、得られる上記の水可溶性等の成分の成分の量と活性酸素除去機能の強さを調整することができ、または、難水溶性等の成分の量とメラニン生成抑制機能の強さを調整することができる。

また、本発明の皮膚外用剤に用いる抽出物は、必要に応じて、一般的な溶剤の組合せによる液-液分配により濃縮することができる。溶剤の組合せは一概に規定し難いが、例えば、水-疎水性有機溶媒の組合せが挙げられ、疎水性有機溶媒としては、ヘキサン、四塩化炭素、クロロホルム、ジクロロメタン、1, 2-ジクロロエタン、ジエチルエーテル、酢酸エチル、n-ブタノール、ベンゼン、トルエン等の公知の有機溶媒が挙げられる。

この液-液分配において、水相の水を除去することによって、活性酸素除去機能を有する濃縮物を得ることができ、一方、溶媒相の溶媒を除去することで、容易にメラニン生成抑制機能を有する濃縮物を得ることができる。

さらに、本抽出物、該抽出物を濃縮処理したものは、分画および/または精製処理することができる。これにより上記濃縮以上に濃縮することができる。

分画・精製処理することの利点としては、メラニン生成抑制機能等の各効果を非常に向上させることができることに加え、不純物を除去することができること等が挙げられる。すなわち、該分画・精製処理した場合、本発明の皮膚外用剤に余計な色をつけることなく好適に配合することができる等のメリットがあり、好ましい。

分画・精製処理の方法については特に制限されないが、例えば、順相および/または逆相クロマトグラフィーによる精製、再結晶、再沈殿、脱色処理、脱臭処

理から選ばれる1種または2種以上の処理により好適に分画・精製処理することができる。

特にクロマトグラフィーの中でも液体クロマトグラフィーを利用する方法は、本発明の皮膚外用剤に用いる抽出物、濃縮物を分解することなく、収率良く分画・精製出来るので、好ましい。液体クロマトグラフィーとしては、具体的に、順相液体クロマトグラフィー、逆相液体クロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィー、ペーパークロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）等が挙げられるが、本抽出物や濃縮物を分画・精製処理する際には、いずれの方法でも用いることができる。とりわけ、分離能、処理量、工程数等を考慮に入れると、順相液体クロマトグラフィー、逆相液体クロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）が好ましい。

ここで、順相液体クロマトグラフィーとは、例えば以下のような方法を指す。すなわち、例えばシリカゲルを固定相、ヘキサノー酢酸エチル混液、クロロホルム-メタノール混液等を移動相としたカラムを作成し、オリーブ植物からの抽出物あるいはその濃縮物を負荷率0.1～5%（wt（質量）/v（体積））で供し、単一移動相による連続的溶出法あるいは溶媒極性を順次増加させる段階的溶出法により、所定の画分を溶出させる方法である。

逆相液体クロマトグラフィーとは、例えば以下のような方法を指す。すなわち、例えばオクタデシルシランを結合させたシリカ（ODS）を固定相、水-メタノール混液、水-アセトニトリル混液、水-アセトン混液等を移動相としたカラムを作成し、オリーブ植物からの抽出物あるいはその濃縮物を負荷率0.1～5%（wt（質量）/v（体積））で供し、単一溶媒による連続的溶出法あるいは溶媒極性を順次低下させる段階的溶出法により、所定の画分を溶出させる方法である。

高速液体クロマトグラフィー（HPLC）とは、原理的には、上記順相液体ク

ロマトグラフィーあるいは逆相液体クロマトグラフィーと同様のものであり、より迅速かつ高分離能での分画・精製を行うためのものである。

上記手法を1種または2種以上組合わせることで、非常に濃縮でき、かつ、不純物が除去された状態で得ることができるため好ましい。

さらに、上記手法を1種または2種以上組合わせることで、各効果を得るための濃度を調整することができ、必要に応じた各効果の強さ、特性等を設計することもできる。

濃縮処理は繰返し濃縮処理しても良く、異なる濃縮処理を組合わせても良い。同様に、分画・精製処理も繰返し分画・精製処理しても良く、異なる分画・精製処理を組合わせても良い。更に、濃縮処理を行った後に分画・精製処理しても良く、分画・精製処理を行った後に分画・精製処理しても良く、濃縮処理した後に分画・精製処理を行い更に濃縮処理することもできる。当然、前述の組み合わせ以外の組み合わせでも良い。

また、オリーブ植物から得られる抽出物から、濃縮処理したもの、さらに分画および／または精製処理したものを、脱色および／または脱臭処理した場合、不要な成分が除去され、かつ、無色～淡色および／または無臭～無臭に近い状態になるので、色や、香りによる、使用の制限を受けないため、幅広い用途が確保できるため好ましい。

脱色方法としては、活性炭処理や白土処理等があげられ、脱臭方法としては、同様に活性炭処理、白土処理があげられ、さらに超臨界抽出、水蒸気蒸留等が挙げられる。

また、オリーブ油の製造工程において生じる生成物、例えば圧搾残渣、抽出残渣、圧搾油、抽出油、脱ガム油滓、脱酸油滓、ダーク油、廃脱色剤、脱臭スカム、搾油ジュース、排水、廃濾過材からも活性酸素除去機能、メラニン生成抑制機能を有する抽出物が得られるが、同様にして濃縮、分画精製を行うことができる。

得られた抽出物、該抽出物を濃縮処理および／または精製処理したものは単独でも、これらを2種類以上組み合わせても使用することもできる。これにより、活性酸素除去機能、メラニン生成抑制機能の強さの特性等を設計することができ、さらに好適な活性酸素除去機能、メラニン生成抑制機能を有する抽出物として使用することができる。さらに、他の抗酸化剤、美白剤、抗癌剤を配合して使用することができ、これにより、各効果の強さ等の詳細な設計が可能であり、また、他の機能物質との相乗効果により大幅な機能強化も期待できる。

また、各機能を組み合わせることもできる。さらに、複数機能を有することから、様々に選択できる機能により、機能の設計をすることができる。

また、水に対する溶解特性を利用し、抽出物をその溶解特性ごとに分け、それぞれの特性を有効に利用することができる製品に配合することもできる。

本発明の皮膚外用剤に用いる抽出物の活性酸素除去機能を有する成分は特に水系の製品に好適に配合することができる。本抽出物は水に容易に溶解する成分、水に溶解しにくい成分、水に溶解しない成分を含んでなるが、全体的には水に対し好適な溶解・分散がなされるため、水系の製品に好適に使用することができる。一般的な抗酸化剤は例えば植物油由来のトコフェロール類等、油溶性（非水溶性）のものが多く、実際の使用に際しては制約を受けることも多い中で、本抽出物の活性酸素除去機能を有する成分は水溶性である（水溶性成分を含んでいる）ので応用範囲が非常に広く、本抽出物を使用した抗酸化剤は、汎用性の高い抗酸化剤と言える。

本抽出物は水系、あるいは、乳化系等、幅広い範囲の飲食物において好適に使用することができ、これを均一に溶解、ないしは分散させて含有させることができる。

また、特に化粧品への使用に関しては、水系の化粧品へも使用できるため、広い用途の化粧品へ使用することができるというメリットがある。

本抽出物の難水溶性成分は、特にメラニン生成抑制機能に優れていることが見出されている。難水溶性等の部分に関しては、経皮吸収性が良いため、皮膚へその効果を好適に与えることができるため好ましい。また、油系への使用は、特に単なる抽出物段階では、油に溶解しにくい成分、油に溶解しない成分が比較的多く含まれていること等の理由から、油脂等への好適な利用は、不溶分を除去する等の精製を行った抽出物を配合するか、また、水および乳化剤を配合することで乳化物として利用することが好ましい。特に、活性酸素除去機能を付加したい場合には、上記のような処理を行うことが好ましい。

上述の通り、本発明の皮膚外用剤に用いる抽出物は、活性酸素除去機能、メラニン生成抑制機能を有する。

活性酸素除去機能とは、生体内または食品や医薬品、農薬等において、活性酸素種の生成を抑制、捕捉、消去、不均化、分解等する機能を示す。より具体的には、例えば、活性酸素種生成の原因となる金属イオンのキレート化および不活性化による活性酸素生成抑制、生成した活性酸素種の消去あるいは分解、酵素等による不均化、ラジカルの捕捉または安定化によるラジカル連鎖反応の抑制および遮断等が挙げられる。ここで、活性酸素種とは、主にスーパーオキシド、ヒドロキシラジカル、パーヒドロキシラジカル、過酸化水素、一重項酸素等を示し、さらには、脂質、蛋白質、炭水化物、核酸等の過酸化物およびこれらから派生するフリーラジカルをも含むものとする。これらの活性酸素種は、食品や生体内における脂質、蛋白質、炭水化物、核酸等の様々な成分を強力に酸化し、本来の成分とは異なる成分に変換または分解してしまう。したがってこの機能は、生体内または皮膚外用剤等に含まれる成分の酸化的劣化の防御剤として有用である。本抽出物は、これらの中でも、特に、高いスーパーオキシド消去活性およびヒドロキシラジカル消去活性を有する。

スーパーオキシド消去活性とは、酸素分子の1電子還元により生成するスーパ



ーオキシドを不均化、無効にする活性である。スーパーオキシドは、例えば生体内においては、白血球やミトコンドリア等で生成され、酸素を利用した生命活動においてその生成を免れることは出来ないものである。また、スーパーオキシドは、その反応性は比較的低く、鉄や一酸化窒素などの限られたものとししか反応しないが、過酸化水素の生成源になるなど他の活性酸素種の生成につながり、生体成分に酸化傷害を引き起こす作用を有するため、生成後すぐに消去されるべき重要な活性酸素種である。スーパーオキシドジスムターゼ（SOD）はスーパーオキシド消去効果を有し、原核生物ですら保有している生体内酵素であるが、より積極的に生体成分を保護するためにはスーパーオキシド消去活性を有する物質を生体に適用することが望ましい。しかし、例えばこのSODは酵素蛋白であり安定性が乏しく、経口投与した場合には、殆どが排泄されてしまうため実効力は極めて低い。すなわち、本抽出物は、摂取あるいは皮膚等に塗布することで安定的にそのスーパーオキシド消去活性を享受できるものであるので、より効果的に生体成分を保護することで、健康な体を保つことあるいは肌を美しいものにするにと等に大きく寄与するものである。

本抽出物は抽出物レベルでありながら、強いスーパーオキシド活性機能を有する合成の抗酸化剤であるBHAを上回る強力なスーパーオキシド消去活性をしており、スーパーオキシド消去剤、脂質過酸化防止剤としての利用の他、生体内における酸化防止剤（生体内抗酸化剤）としても利用することができる。

ヒドロキシラジカル消去活性とは、種々の要因により生成したヒドロキシラジカルを捕捉、安定化させる活性である。ヒドロキシラジカルは、例えば酸素を利用した生命活動においては、その生成を免れることは出来ず、種々の活性酸素種の中でも非常に反応性に富む化学種であり、あらゆる生体成分を酸化損傷させ得る最も毒性の高い活性酸素種である。このヒドロキシラジカルの生成経路の一つとしては、生体内に存在する鉄イオンが過酸化水素やスーパーオキシドに関与す

るフェントン反応等が挙げられるが、生体内にはヒドロキシラジカルに対する有効な除去機構が存在しないため、ヒドロキシラジカル消去活性を有する物質の摂取は必要不可欠である。このヒドロキシラジカルの除去剤としては、マンニトールやトリプトファン、ギ酸等がある。しかしながら、これらのものの中には、単一品でありながらかなりの高濃度添加を要するものが多い。すなわち、本発明の抽出物は、摂取あるいは皮膚等に塗布することでそのヒドロキシラジカル消去活性を享受できるものであり、効果的に生体成分を保護することで健康な体を保つことあるいは肌を美しいものにすること等に大きく寄与するものである。

本抽出物は、抽出物レベルとしては、かなり少量でヒドロキシラジカルを消去（例えば、リノール酸の過酸化を抑制）することが可能であり、通常のヒドロキシラジカルの除去剤と比べても非常に有効であるといえる。ヒドロキシラジカル消去剤、脂質過酸化防止剤として使用でき、生体内における酸化防止剤（生体内抗酸化剤）、脂質等の酸化を受け易い成分を含有する飲食料、化粧品、医薬品、飼料等のあらゆる製品の保存安定性を向上させる抗酸化剤としても使用できる。

しかも、前述のSODはスーパーオキシドに対してのみ消去効果を示し、ヒドロキシラジカルに対しては全く消去活性が無く、また、同様にマンニトールはスーパーオキシドを消去出来ない。これに対して、本抽出物はこの両者に対して、消去効果を示す。

すなわち、本抽出物は、強いスーパーオキシド消去活性、および、強いヒドロキシラジカル消去活性という両方の活性酸素除去機能を有するので、極めて汎用性が高いといえる。

また、効果の面からは、スーパーオキシド消去活性、ヒドロキシラジカル消去活性の両方の活性酸素除去機能を有することから、生体内抗酸化効果を有するものとして優れており、併せて、ヒドロキシラジカル消去活性による脂質過酸化防止効果から皮膚外用剤の他、飲食料、化粧品、医薬品、飼料等の保存安定性向上

効果を有するものとして優れている。

皮膚の老化現象であるシワやたるみを引き起こす要因として、コラーゲン繊維の架橋重合の他、コラーゲン産生能の低下やコラーゲン分解能の促進等によるコラーゲン量の減少、組織間基質つまりムコ多糖類（主にヒアルロン酸）の断片化（低分子化）があるが、これら全てに活性酸素が関与していることがよく知られている。このような要因を引き起こす活性酸素種の中でも、最も反応性の高いのがヒドロキシラジカルであり、これがシワ、たるみに及ぼす影響も大きい。また、スーパーオキシドは、それ自身の反応性は比較的低いが、過酸化水素の生成源になり、ヒドロキシラジカル等、他の様々な活性酸素種の発生要因である。従って、それ自体の反応性は低い、生体成分等、非常に多くの酸化傷害に関与する重要な活性酸素種である。

このことから、ヒドロキシラジカル消去活性を有するということは、皮膚の老化現象を引き起こす要因であるヒドロキシラジカルという最強の活性酸素種を不活性化できることになる。さらに、スーパーオキシド消去活性をもつということは、ヒドロキシラジカルをはじめとする種々の活性酸素種の生成源であるスーパーオキシドを不活性化できることから、皮膚の老化の要因物質の発生を抑制し、老化現象を防ぐことにつながる。

従って、本抽出物を利用した際の効果の面では、抽出物がスーパーオキシド消去活性、ヒドロキシラジカル消去活性の両活性を併せ持つことで、皮膚の老化の要因物質の発生を防ぎ、かつ、発生した老化の要因物質を不活性化することができるので、より一層皮膚への抗老化に寄与する。

他の天然抗酸化物と活性酸素除去機能を比較すると、例えば比較的活性酸素除去機能が強いとされるゴマ粕由来の抽出物のスーパーオキシド消去活性は  $5 \sim 10 \text{ unit} / (\text{mg} / \text{mL})$  であるのに対し、本抽出物はスーパーオキシド消去活性が  $20 \sim 65 \text{ unit} / (\text{mg} / \text{mL})$  であり、ゴマ粕由来抽出物の  $2 \sim 1$

3倍という、非常に高い効果を有する。

ここで、本方法は、活性酸素除去機能の強い抽出物を得ることができ、さらに、その単位原料あたりの収率も高い。この双方のことから、活性酸素除去機能の強さに、単位原料あたりの収率を乗じた活性酸素除去機能収量指数<式1>について、他の天然原料を用いた場合に比べて、大幅に高い値が得られる。つまり、単位原料あたりに得られる活性酸素除去機能の総量が大きいということである。よって、本抽出物を生産し、使用することで、活性酸素除去機能が強い製品はもちろん、他の天然の抗酸化剤等と置き換えた場合、単位原料から得られる活性酸素除去機能の総量が大きいことにより多くの製品をつくることができる、ということであり、このことは、コスト面からのメリットも期待できるということである。従って本発明はまた、単位原料から得られる活性酸素除去機能収量指数が高い本抽出物の製造方法に関する。また、この活性酸素除去機能収量指数を参考とすることで、好適な生産条件を決めることもできる。

<式1> 活性酸素除去機能収量指数 = 活性酸素除去機能の強度 × 単位原料あたりの収率 (%)

スーパーオキシド消去活性に関していえば、単位原料から得られる抽出物のスーパーオキシド消去活性収量指数<式2>がおおよそ100～3250である。従って本発明はまた、単位原料から得られるスーパーオキシド消去活性収量指数が100以上である本抽出物の製造方法に関する。例えば、ゴマと比較した場合、スーパーオキシド消去活性収量指数が5～100であるので、ゴマの場合の1～650倍という高い値である。つまり、同じ単位原料あたりで1～650倍の活性酸素除去機能を得られるということである。

<式2> スーパーオキシド消去活性収量指数

= スーパーオキシド消去活性 (unit / (mg / mL)) × 単位原料あたりの収率 (%)

本抽出物は、強いメラニン生成抑制機能を有する。メラニン生成抑制機能とは、紫外線暴露、ホルモン異常、遺伝情報等の刺激を受けたメラノサイトによるメラニン色素の生合成を抑制する機能である。一般に、皮膚の色黒やシミ、ソバカス、くすみは、紫外線による刺激やホルモン異常等によってメラノサイトが刺激され、そこで生合成されたメラニン色素が皮膚に沈着して発生することが分かっている。したがって、メラニンの生成を抑えることが出来れば、皮膚の色黒やシミ、ソバカス、くすみを予防・改善することが可能である。すなわち、本抽出物は、そのメラニン生成抑制機能を享受できるものであり、摂取することで体の内面から、皮膚等に塗布することで外面からその効果を発現させ、白く美しい肌を保つこと等に大きく寄与することができる。

本抽出物について、次のようなメラニン生成抑制機能を指標として評価する。その方法としては、B-16メラノーマ細胞を用いた培養実験系にて、その細胞白色化度（メラニン生成抑制機能）と細胞毒性を比較評価する。

B-16メラノーマ細胞はメラニン産生能を有する細胞であり、培養により自然に増殖した細胞は黒色化する。この増殖中に系内にメラニン生成を抑制する物質が存在すると、細胞の黒色化が抑えられ相対的に白色化する。そこで、検体無添加時の黒色化度に対する検体添加時の細胞白色化度を比較評価する。また、物質によってはB-16メラノーマ細胞に対する毒性を有するものがある。この細胞毒性を評価するために、細胞生存率を検体無添加時と検体添加時で比較する。この細胞毒性を評価するために、細胞生存率を検体無添加時と検体添加時で比較する。この細胞白色化度と細胞生存率を併せて、メラニン生成抑制機能を評価する。

B-16メラノーマ細胞を用いた細胞培養系でのメラニン生成抑制機能の評価方法の実例としては、6穴プレートに培地を2ml/well取り、B-16メラノーマ細胞を所定量播種し、37℃、二酸化炭素濃度5%にて静置、培養する。

翌日、所定濃度になるように検体試料（オリーブ各種抽出物）調製液を添加混和し、培養を継続する。培養5日目に培地を交換し、再度検体試料調製液を添加する。翌日、培地を除き、細胞を回収しPBS（リン酸緩衝生理食塩水）で洗浄後、細胞の白色化度により評価した。なお、メラニン生成抑制機能の評価は、検体試料調製液の代わりにアルブチン（ポジティブコントロール） $300\mu\text{g}/\text{ml}$ を用いて同様の操作を行った細胞の白色化度、および、検体試料無添加（コントロール）で同様にして得られた白色化度と比較して評価する。

本抽出物は抽出物レベルでありながら、優れたメラニン生成抑制機能を有する美白効果の強い美白剤のアルブチンやコウジ酸と比較して、同等以上のメラニン生成抑制機能を有し、さらに、ビタミンCリン酸マグネシウムを大幅に上回る、非常に強いメラニン生成抑制機能を有する。アルブチンをポジティブコントロールとした時の、下記<式3>により求められるメラニン生成抑制機能指数で表わすと、粗抽出物はメラニン生成抑制機能指数が0.5～5程度であり、抽出物レベルであるにもかかわらず非常にメラニン生成抑制機能が高い。従って本発明はまた、メラニン生成抑制機能指数が0.5以上である抽出物に関する。更に濃縮や分画・精製を行えば、さらに向上し、メラニン生成抑制機能指数も高いものとなり、例えば水への溶解性を利用して濃縮された抽出物はメラニン生成抑制機能指数が8～20程度まで向上している。

<式3> メラニン生成抑制機能指数 $=A\div B$

A：ポジティブコントロールの濃度（アルブチン $300\text{ppm}$ ）

B：ポジティブコントロール（アルブチン $300\text{ppm}$ ）添加時と同じ白色化度を発現する検体試料の濃度（ $\text{ppm}$ ）

本抽出物は、B-16メラノーマ細胞に対する優れたメラニン生成抑制機能を有するのみならず、B-16メラノーマ細胞に対する細胞毒性も非常に低いことから、皮膚への毒性が低いと考えられる。

例えば、B-16メラノーマ細胞に対する細胞毒性を、美白剤として広く用いられているアルブチンをポジティブコントロールとした時の、下記<式4>により求められる細胞への毒性指数で表わすと、本抽出物は細胞への毒性指数が低く、アルブチンと比較して皮膚に対する毒性が低い。

<式4> 細胞への毒性指数 =  $C \div D$

C : B-16メラノーマ細胞の生存率が10%以下になるポジティブコントロールの濃度 (アルブチン500ppm)

D : B-16メラノーマ細胞の生存率が10%以下になる検体試料の濃度

ここで細胞生存率は、下記<式5>より求める。

<式5> 細胞生存率 (%) =  $(E \div F) \times 100$

E : 各検体添加時の生存細胞数

F : 検体無添加時の細胞数

これらのことから、本抽出物は、優れたメラニン生成抑制機能を有する美白剤として公知のアルブチン等に比べ皮膚への毒性が低いため、多量に皮膚へ塗布することが可能である。つまり、実際に皮膚へ与えることが可能な美白効果は非常に大きく、前述の通りアルブチンに比べても効果が大きいものとなる。また、これは、化粧品等へ比較的高濃度で配合することができるということでもあるので、本抽出物を配合した化粧品等は皮膚に対する美白効果が高いものになる。

アルブチンのメラニン生成抑制機能および皮膚への毒性を基準にして、実際に皮膚に塗布できる量とその美白効果の総量、つまり、実質的に皮膚に塗布し与えられる美白効果の指標としては、実質メラニン生成抑制機能指数が下記<式6>により求められる。この実質メラニン生成抑制機能指数で表わすと、本抽出物の実質メラニン生成抑制機能指数は、アルブチンをポジティブコントロールとした場合、1~10程度であり、非常に高いことから、アルブチンに比べても実際に皮膚に与えることができる美白効果は高い。従って本発明はまた、実質美白効果

指数が1以上である抽出物に関する。更に濃縮・精製を行えば、実質メラニン生成抑制機能指数も高いものとすることができ、例えば水への溶解性を利用して濃縮された抽出物は実質メラニン生成抑制機能指数が8～20程度まで向上している。

<式6> 実質メラニン生成抑制機能指数＝メラニン生成抑制機能指数÷皮膚への毒性指数

ここで、本発明の製造方法によると、メラニン生成抑制機能の強い抽出物を得ることができ、さらに、その単位原料あたりの収率も高い。この双方のことから、メラニン生成抑制機能の強さに、単位原料あたりの収率を乗じた、下記<式4>および<式5>によって求められるメラニン生成抑制機能収量指数および実質メラニン生成抑制機能収量指数について、他の天然原料を用いた場合に比べて、大幅に高い値が得られる。つまり、単位原料あたりに得られるメラニン生成抑制機能の総量が大きいということである。よって、本抽出物を生産し、使用することで、皮膚に対する美白効果が強い製品はもちろん、他の天然の美白剤等と置き換えた場合、単位原料から得られるメラニン生成抑制機能および実質メラニン生成抑制機能の総量が大きいため、より多くの製品をつくることができる、ということであり、これは、コスト面からのメリットも期待できるということである。

<式7> メラニン生成抑制機能収量指数＝メラニン生成抑制機能の指数×単位原料あたりの収率(%)

<式8> 実質メラニン生成抑制機能収量指数＝実質メラニン生成抑制機能指数×単位原料あたりの収量(%)

本抽出物と他の天然抽出物のそれぞれのメラニン生成抑制機能収量指数および実質メラニン生成抑制機能指数等を比較すると、本抽出物は、例えば比較的皮膚に対する美白効果が強いゴマ粕由来の水溶性抽出物に対し、皮膚に対するメラニン生成抑制機能指数は粗抽出物で2～15倍程度と高く、更に濃縮や分画・精製



を行えば10～50倍程度と非常に高いものになる。また、実質メラニン生成抑制機能指数は2～15倍程度であり、収率は1～10倍程度であり、メラニン生成抑制機能収量指数は2～30倍程度、実質メラニン生成抑制機能収量指数は2～40倍程度になる。

本抽出物は、他の天然の美白成分と比較しても、皮膚に対するメラニン生成抑制機能、収率等が上回り、メラニン生成抑制機能指数、実質メラニン生成抑制機能指数が大幅に上回ることから、単位原料あたりに得られるメラニン生成抑制機能の総量（メラニン生成抑制機能収量指数、実質メラニン生成抑制機能収量指数）が大きいということである。よって、本抽出物を生産し、使用することで、皮膚に対する美白効果が強い製品はもちろん、他の天然の美白剤等と置き換えた場合、単位原料から得られる美白効果の総量が大きいためより多くの製品をつくることができる、ということであり、これは、コスト面からのメリットも期待できるということである。

また、このメラニン生成抑制機能収量指数、実質メラニン生成抑制機能収量指数を指標とすることで、好適な生産条件を決めることもできる。

本抽出物は活性酸素除去機能、メラニン生成抑制機能を有する。活性酸素除去機能としては、スーパーオキシド消去活性、ヒドロキシラジカル消去活性等が挙げられる。これらの2次的な効果として皮膚の抗老化効果や美白効果等の美肌効果や酸化防止効果が得られる。

このような機能を有する本抽出物を配合した皮膚外用剤は、皮膚に対する優れた抗老化効果や強力な美白効果を有し、非常に優れた美肌効果を有する皮膚外用剤である。

ここで、皮膚外用剤とは、皮膚に対して使用するものであり、医薬品、医薬部外品、化粧品を含むものであり、その形態としては特に限定されず、例えば、乳液、クリーム、化粧水、パック、洗浄料等のスキンケア化粧品、口紅、ファンデ

ーション等のメーキャップ化粧品、頭皮用化粧品や、軟膏剤、分散液、クリーム剤、外用液剤などの医薬品等をいう。イメージが良いオリーブ由来であるので、使用者に対して、精神的な爽快感、安心感を与えるため好ましいといえる。

本抽出物の原料であるオリーブは、安定的に入手することができる植物原料である。天然由来であり、食品・食用として広く用いられているオリーブを原料として得られる抽出物であることから、人体にとって安全性の高い抽出物であるといえる。

本発明によれば、様々な機能を有するオリーブ抽出物を含有する皮膚外用剤を得ることができ、美肌効果、特に皮膚の抗老化効果、美白効果を有する抽出物を含有する皮膚外用剤を得ることができるが、さらに、該抽出物を濃縮、分画・精製処理することで各機能を向上させることや、各機能の強さ等を調節し効果全体の組合せを設計することができる。抽出物の濃縮条件等を調整することにより、要求される強さの皮膚に対する抗老化効果や美白効果等の美肌効果を有する皮膚外用剤を得ることができる。

本発明はオリーブ植物から得られる抽出物を含有する皮膚外用剤に関するが、この抽出物の含量は目的とする皮膚に対する抗老化効果や美白効果等の美肌効果や、使用態様、使用量、抽出物の濃縮や分画・精製度合い等により異なり、適宜調整することができ、特に制限されないが、例えば0.0001～50質量%、好ましくは0.0001～30質量%、より好ましくは0.01～30質量%、特に好ましくは0.05～30質量%、更に特に好ましくは0.1～30質量%、最も好ましくは0.1～20質量%である場合が好ましい。

また、本発明は、オリーブ植物から得られる抽出物を美肌成分として含有する皮膚外用剤に関し、特に、皮膚に対する抗老化成分および／または美白成分を有する皮膚外用剤である。これらは、美肌効果を有し、特に皮膚への抗老化効果、美白効果を有する。本皮膚外用剤に含有される抽出物は、好ましくは濃縮処理お

よび／または分画・精製処理することができ、これらの処理条件で得られる抽出物の効果を調整することができるので、これによっても、本発明の皮膚外用剤の効果を設計・調整することができる。

美肌効果とは、紫外線暴露、ホルモンバランスの変化、遺伝的プログラム等の様々な要因により発生する皮膚の色黒やシミ、ソバカスを改善あるいは防止する効果、肌のくすみを軽減する効果、肌を透明感のある美しいものにする、あるいは透明感のある美しい肌を保つ効果、肌のツヤ・張りを増す効果、肌をみずみずしいものにする、あるいはみずみずしい肌を保つ効果、肌の老化現象進行を抑制・防止する効果等を示す。また、直接見た目の効果ではないが、皮脂成分の酸化劣化等による体臭等の匂いの発生を抑制する効果も得ることができ、これも広い意味での美肌効果といえる。本発明の皮膚外用剤は、本抽出物が有する活性酸素除去機能およびメラニン生成抑制機能により、上記のいずれの美肌効果をも有するが、特に皮膚の色黒やシミ、ソバカス、くすみを改善あるいは防止する美白効果および、肌の老化現象進行を抑制・防止する皮膚の抗老化効果の点において優れている。

皮膚の抗老化効果とは、紫外線暴露等により発生する皮膚の光老化や、ホルモンバランスの変化、活性酸素傷害等の加齢に伴う皮膚の老化を予防・改善する効果を示す。一般に、シワやたるみを引き起こす要因として、紫外線暴露や生命活動に伴って生じる活性酸素種が、皮膚の構成成分である脂質、糖質、蛋白質等に障害を起こすことが知られている。したがって、これら活性酸素種を消去することができれば、これらのシワやたるみ、すなわち、皮膚の老化を予防・改善することが可能である。この点において、本発明の皮膚外用剤は、本抽出物がスーパーオキシド消去活性およびヒドロキシラジカル消去活性等の活性酸素除去機能を有するため、活性酸素種の影響を最小限に抑えることができることから、皮膚のシワやたるみ等の皮膚の老化を改善あるいは防止することができ、優れた皮膚の

抗老化効果を有する。

皮膚の抗老化効果については、実際に本抽出物を配合したクリーム、化粧水、乳液等の様々な皮膚外用剤等を処方し、該皮膚外用剤等を用いて女性パネルによる官能評価試験を行うことによって評価できる。すなわち、処方した被験皮膚外用剤等に対して、20代～50代の女性15名をパネルとし、毎日朝と夜の2回、複数週間にわたって皮膚に塗布する。塗布による皮膚抗老化効果は、肌のはり、つやが付与され、また、シワ、たるみが改善される効果について有効、やや有効、無効の3段階の官能試験結果を得ることで評価できる。

この評価においては、本発明の皮膚外用剤等は、比較品としてゴマ脱脂粕抽出物を配合した場合に比べても同等以上の皮膚の抗老化効果を有する。すなわち、本発明の皮膚外用剤は、優れた皮膚の抗老化効果を有する。

美白効果とは、紫外線暴露、ホルモンバランスの変化、遺伝的プログラム等の様々な要因により発生する皮膚の色黒やシミ、ソバカス、くすみを改善あるいは防止する効果を示す。一般に、皮膚の色黒やシミ、ソバカス、くすみは、紫外線による刺激やホルモンバランスの変化等によってメラノサイトが刺激され、そこで生合成されたメラニン色素が皮膚に沈着して発生することが知られている。したがって、メラニンの生成を抑えることができれば、皮膚の色黒やシミ、ソバカス、くすみを予防・改善することが可能である。この点において、本発明の皮膚外用剤は、本抽出物がメラニン生成抑制機能を有するため、メラニン色素の生成を最小限に抑えることができることから、皮膚の色黒やシミ、ソバカス、くすみを改善あるいは防止することができ、優れた美白効果を有する。

美白効果についても、実際に本抽出物を配合したクリーム、化粧水、乳液等の様々な皮膚外用剤等を処方し、該皮膚外用剤等を用いて女性パネルによる官能評価試験を行うことによって評価できる。すなわち、処方した被験皮膚外用剤等に対して、20代～50代の女性15名をパネルとし、毎日朝と夜の2回、複数週

間にわたって皮膚に塗布する。塗布による美白効果は、肌のシミ、ソバカス、くすみを目立たなくする効果について有効、やや有効、無効の3段階の官能試験結果を得ることで評価できる。

この評価においては、本抽出物を配合した皮膚外用剤等は、比較品として優れた美白剤であるアルブチン、コウジ酸等を配合した場合に比べても同等以上の美白効果を有する。すなわち、該皮膚外用剤は、優れた美白効果を有する。

この皮膚外用剤に含有させる、オリーブ植物から得られる抽出物については、粗抽出物でも、濃縮および／または分画・精製することで活性酸素除去機能、メラニン生成抑制機能を強化したもののでも良い。また、活性酸素除去機能、メラニン生成抑制機能の一方を強化したもののでも、これらを混合したもののでも良い。濃縮処理等により、得られる2次的効果である皮膚の抗老化効果、美白効果等の美肌効果も強化されるので、皮膚外用剤に求められる効果に応じて調整することができる。

また、皮膚外用剤の形態として、本発明の抽出物に加えて、さらに、美白剤、抗酸化剤、抗炎症剤、細胞賦活剤、紫外線防止剤、血行促進剤、保湿剤からなる群から選ばれる薬効剤の一種又は二種以上を含有するものがあげられる。

上記の様に、本発明の皮膚外用剤には、その他の薬効剤等を配合することができる。ここで、本抽出物と各薬効剤の相乗効果も期待される。具体的な薬効剤としては、それぞれ以下に示すものが挙げられる。

本発明の皮膚外用剤における薬効剤の配合量は、薬効剤の種類により相違するが、以下に示す範囲とすることが好ましい。この範囲であれば、本抽出物と組み合わせた場合、製品に悪影響を及ぼすことがなく、より高い美白効果および美肌効果等を発揮させることができる。

本発明以外のその他の美白剤としては、ビタミンC及びその誘導体並びにそれらの塩、アルブチン、グルタチオン、胎盤抽出物、ユキノシタ抽出物、ヨクイニ

ン抽出物、オウゴン抽出物、海藻抽出物、コムギ抽出物等が挙げられる。

これらの美白剤のうち、特に好ましいものとしては、ビタミンC及びその誘導体並びにそれらの塩、アルブチン、グルタチオン、胎盤抽出物が挙げられる。

本発明の皮膚外用剤における上記その他の美白剤の配合量は、本発明の皮膚外用剤の全質量を基準として、好ましくは0.00001~10%であり、より好ましくは0.0001~5%の範囲である。本発明の美白剤と併用する場合、これらの美白剤と本発明の美白剤とは、0:100~95:5（質量比）の範囲で使用するのが好ましい。胎盤抽出物及び植物抽出物を抽出液のまま用いる場合は乾燥固形分としてこの範囲であれば良い。この範囲であればより優れた美白、美肌効果を示し、かつ、使用感の良好な皮膚外用剤が得られる。

抗酸化剤としては、スーパーオキシドジスムターゼ、カタラーゼ、グルタチオンペルオキシダーゼ等の酵素類、トコフェロール及びその誘導体、ジブチルヒドロキシトルエン、ブチルヒドロキシアニソール、 $\beta$ -カロチン等のカロテノイド類及びその誘導体、没食子酸やエラグ酸等のタンニン類及びそれらの誘導体、フラボン、カテキン、ケルセチン、ロイコアントシアニン等のフラボノイド類、ユビキノンやビタミンK等のキノン類、チアミン類及びその塩、リボフラビン、酢酸リボフラビン等のリボフラビン類、塩酸ピリドキシン、ピリドキシンジオクタノエート等のピリドキシン類、ニコチン酸アミド、ニコチン酸ベンジル等のニコチン酸類、ビリルビン、マンニトール、トリプトファン、ヒスチジン、ノルジヒドログアイアレチン酸等が挙げられる。

これらの抗酸化剤のうち、特に好ましいものとしては、スーパーオキシドジスムターゼ、トコフェロール及びその誘導体、ケルセチン、マンニトール等が挙げられる。

本発明の皮膚外用剤における抗酸化剤の配合量は、本発明の皮膚外用剤の全質量を基準として、好ましくは0.00001~5%、より好ましくは0.000

1～3%の範囲である。植物抽出物を抽出液のまま用いる場合は乾燥固形分としてこの範囲であれば良い。この範囲であればより優れた抗酸化効果の発現がみられ、皮膚内での過酸化脂質の生成による肌の炎症、黒化、老化を防止し、かつ、優れた美白、美肌効果を示す皮膚外用剤が得られる。

抗炎症剤としては、グリチルリチン酸、グリチルレチン酸、アラントイン、アズレン、メフェナム酸、フェニルブタゾン、インドメタシン、イブプロフェン、ケトプロフェン、 $\epsilon$ -アミノカプロン酸、ヒドロコルチゾン、バンテノール及びそれらの誘導体並びにそれらの塩、酸化亜鉛、ジクロフェナクナトリウム、アロエ抽出物、シソ抽出物、ヨモギ抽出物、カミツレ抽出物、コンフリー抽出物、ジュウ抽出物、クレソン抽出物等が挙げられる。

これらの抗炎症剤のうち、特に好ましいものとしては、グリチルリチン酸、グリチルレチン酸及びそれらの誘導体並びにそれらの塩等が挙げられる。

本発明の皮膚外用剤における抗炎症剤の配合量としては、本発明の皮膚外用剤の全質量を基準として、0.00001～5%の範囲が好ましく、より好ましくは0.0001～3%の範囲である。植物抽出物を抽出液のまま用いる場合は乾燥固形分としてこの範囲であれば良い。この範囲であれば優れた抗炎症効果がみられ、かつ、優れた美白、美肌効果を示す皮膚外用剤が得られる。

細胞賦活剤としては、ロイヤルゼリー、感光素、コレステロール及びその誘導体、幼牛血液抽出液、ビタミンA及びその誘導体、クエン酸、乳酸、酒石酸、リンゴ酸、グリコール酸、コハク酸、セリン、グルタミン酸、ヒドロキシプロリン、テアニン、ピロリドンカルボン酸、酵母抽出物、乳酸菌抽出物、ビフィズス菌抽出物、醗酵代謝抽出物等が挙げられる。

これらの細胞賦活剤のうち、特に好ましいものとしては、ビタミンA及びその誘導体、クエン酸、リンゴ酸、乳酸、セリン、ピロリドンカルボン酸が挙げられる。

本発明の皮膚外用剤における細胞賦活剤の配合量としては、本発明の皮膚外用剤の全質量を基準として、好ましくは0.00001～5%、より好ましくは0.0001～3%の範囲である。抽出物を抽出液のまま用いる場合は、乾燥固形分としてこの範囲であれば良い。この範囲であればより優れた肌荒れ改善効果が発現し、かつ、優れた美白、美肌効果を示す皮膚外用剤が得られる。

紫外線防止剤としては、パラアミノ安息香酸等の安息香酸系紫外線吸収剤、アントラニル酸メチル等のアントラニル酸系紫外線吸収剤、サリチル酸メチル等のサリチル酸系紫外線吸収剤、パラメトキシケイ皮酸エチル等のケイ皮酸系紫外線吸収剤、2-ヒドロキシ-4-メトキシベンゾフェノン等のベンゾフェノン系紫外線吸収剤、ウロカニン酸エチル等のウロカニン酸系紫外線吸収剤、4-tert-ブチル-4'-メトキシジベンゾイルメタン、2-(2'-ヒドロキシ-5'-メチルフェニル)ベンゾトリアゾール、オキシベンゾン、酸化チタン、微粒子酸化チタン、酸化亜鉛等が挙げられる。

これらの紫外線防止剤のうち、特に好ましいものとしては、パラメトキシケイ皮酸エチル、酸化チタン、微粒子酸化チタン、酸化亜鉛等が挙げられる。

本発明の皮膚外用剤における紫外線防止剤の配合量としては、本発明の皮膚外用剤の全質量を基準として、好ましくは0.01～20%、より好ましくは0.1～10%の範囲である。この範囲であればより優れた紫外線防止効果が発現し、かつ、優れた美白、美肌効果を示す皮膚外用剤が得られる。

血行促進剤としては、センブリエキス、セファランチン、トコフェロール及びその誘導体、ニコチン酸及びその誘導体、ノニル酸ワレニルアミド、カプサイシン、ジンゲロン、カンタリスチンキ、イクタモール、カフェイン、タンニン酸、 $\alpha$ -ボルネオール、シクランデレート、シンナリジン、トラゾリン、アセチルコリン、ベラパミル、 $\gamma$ -オリザノール、カンフル、ヒノキチオール、リパーゼやパパイン等の酵素類、トウガラシ抽出物、センブリ抽出物、アルニカ抽出物、ベ



ニバナ抽出物、トウキ抽出物等が挙げられる。

これらの血行促進剤のうち、特に好ましいものとしては、セファランチン、トコフェロール及びその誘導体、 $\gamma$ -オリザノール等が挙げられる。

本発明の皮膚外用剤における血行促進剤の配合量としては、本発明の皮膚外用剤の全質量を基準として、好ましくは0.001～10%、より好ましくは0.01～20%の範囲である。この範囲であればより優れた血行促進効果が発現し、かつ、優れた美白、美肌効果を示す皮膚外用剤が得られる。

保湿剤としては、グリセリン、ジグリセリン、プロピレングリコール、ジプロピレングリコール、1,3-ブチレングリコール、ポリエチレングリコール等の多価アルコール類、コラーゲン、エラスチン、ケラチン等のタンパク質またはそれらの誘導体及び加水分解物並びにそれらの塩、グリシン、アスパラギン酸、アルギニン等のアミノ酸及びそれらの誘導体、ソルビトール、キシリトール、エリスリトール、トレハロース、イノシトール、グルコース、蔗糖およびそれらの誘導体、デキストリン及びその誘導体、ハチミツ等の糖類、D-パンテノール及びその誘導体、ヒアルロン酸及びその塩、コンドロイチン硫酸等のムコ多糖類、ピロリドンカルボン酸塩、尿素、リン脂質、糖脂質、セラミド、乳酸ナトリウム等が挙げられる。

これらの保湿剤のうち、特に好ましいものとしては、プロピレングリコール、コラーゲン、エラスチン、ケラチン等のタンパク質、ヒアルロン酸及びその塩、コンドロイチン硫酸等のムコ多糖類等が挙げられる。

本発明の皮膚外用剤における保湿剤の配合量としては、本発明の皮膚外用剤の全質量を基準として、好ましくは0.001～70%、より好ましくは0.1～20%の範囲である。この範囲であればより優れた保湿効果が発現し、かつ、優れた美白、美肌効果を示す皮膚外用剤が得られる。

これらの美白剤、抗酸化剤、抗炎症剤、細胞賦活剤、紫外線防止剤、血行促進

剤および保湿剤は、一種又は二種以上組み合わせて用いることができる。

本発明の皮膚外用剤は、常法に従い、通常の皮膚外用剤として知られる種々の形態の基剤に配合して調製することができる。

皮膚外用剤の配合形態の例としては、特に限定されず、例えば、乳液、クリーム、化粧水、パック、洗浄料、メーキャップ化粧料、分散液、軟膏などの化粧料や外用医薬品および医薬部外品等とすることができる。

また、本発明の皮膚外用剤には、必要に応じて本発明の効果を損なわない範囲で、通常に使用される成分、すなわち、水(精製水、温泉水、深層水等)、油剤、界面活性剤、金属セッケン、ゲル化剤、粉体、アルコール類、水溶性高分子、皮膜形成剤、樹脂、包接化合物、抗菌剤、香料、消臭剤、塩類、pH調整剤、清涼剤、植物・動物・微生物由来の抽出物、収斂剤、抗脂漏剤、キレート剤、角質溶解剤、酵素、ホルモン類、ビタミン類等を加えることができる。好適な成分の具体例としてはそれぞれ以下に示すものが挙げられる。ここで、以下に例示する「誘導体」には形成可能な塩が含まれる。

油剤としては、基剤の構成成分又は使用性、使用感を良くするものとして、通常の化粧料に使用されるものであれば、天然系油であるか、合成油であるか、或いは、固体、半固体、液体であるか等の性状は問わず、炭化水素類、ロウ類、脂肪酸類、高級アルコール類、エステル油、シリコーン油類、フッ素系油類等を使用することができる。

例えば、スクワラン、ワセリン等の炭化水素類、オリーブ油、ヒマシ油、ホホバ油、ミンク油、マカデミアンナッツ油、杏仁油、パーシック油、サフラワー油、ヒマワリ油、アボガド油、メドウホーム油、ツバキ油、アーモンド油、エゴマ油、ゴマ油、ボラージ油、カカオ脂、シア脂等の植物や動物由来の油脂、ミツロウ、カルナウバロウ、キャンデリラロウ、ゲイロウ等のロウ類等が挙げられる。

界面活性剤は、油剤等の乳化や可溶化等のために用いられ、アニオン性、カチ

オン性、非イオン性及び両性の活性剤を用いることができる。

金属セッケンとしては、脂肪酸等のアルカリ塩以外の金属塩であり、ステアリン酸アルミニウム、ステアリン酸マグネシウム、ラウリン酸亜鉛等が挙げられる。

ゲル化剤は、系の安定化や使用性、使用感を良くするために用いられ、N-ラウロイル-L-グルタミン酸等のアミノ酸誘導体、デキストリンバルミチン酸エステル等のデキストリン脂肪酸エステル、ショ糖脂肪酸エステル、有機変性粘土鉱物等が挙げられる。

粉体は、主としてメーキャップ化粧料における着色や皮膚の隠蔽、又は使用感を良くするため等多目的に用いられ、通常の化粧料に使用されるものであれば、その形状（球状、針状、板状、等）や粒子径（煙霧状、微粒子、顔料級等）、粒子構造（多孔質、無孔質等）を問わず、いずれのものも使用することができる。例えば、無機粉体としては、硫酸バリウム、炭酸カルシウム、タルク、雲母、合成雲母、マイカ、カオリン、セリサイト、ケイ酸、無水ケイ酸、ケイ酸アルミニウムマグネシウム、セラミックスパウダー、窒化ホウ素等が挙げられ、有機粉体としては、ポリエステルパウダー、ポリエチレンパウダー、ポリスチレンパウダー、ナイロンパウダー、ラウロイルリジン等が挙げられ、有色顔料としては、酸化鉄、カーボンブラック、酸化クロム、紺青、群青等の無機系顔料、タール系色素をレーキ化したもの、天然色素をレーキ化したものが挙げられ、パール顔料としては、酸化チタン被覆雲母、酸化チタン被覆マイカ、オキシ塩化ビスマス、酸化チタン被覆オキシ塩化ビスマス、酸化チタン被覆タルク、魚鱗箔、酸化チタン被覆着色雲母等、その他タール色素、カルミン酸等の天然色素等が挙げられる。これらの粉体を複合化したり、油剤やシリコン、又はフッ素化合物で表面処理を行なっても良い。

アルコール類としてはエタノール、イソプロパノール等の低級アルコール、グリセリン、ジグリセリン、エチレングリコール、ジエチレングリコール、トリエ

チレングリコール、プロピレングリコール、ジプロピレングリコール、1,3-ブチレングリコール、ポリエチレングリコール等が挙げられる。

水溶性高分子は、系の安定化や使用性、使用感を良くするために用いられ、又保湿効果を得るためにも用いられる。水溶性高分子の具体例として、カラギーナン、ペクチン、寒天、ローカストビーンガム等の植物系高分子、キサンタンガム等の微生物系高分子、カゼイン、ゼラチン等の動物系高分子、デンプン等のデンプン系高分子、メチルセルロース、エチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ニトロセルロース、結晶セルロース等のセルロース系高分子、アルギン酸ナトリウム等のアルギン酸系高分子、カルボキシビニルポリマー等のビニル系高分子、ポリオキシエチレン系高分子、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレン共重合体系高分子、ポリアクリル酸ナトリウム等のアクリル系高分子、ベントナイト、ヘクトライト等の無機系水溶性高分子等が挙げられる。

また、この中には、ポリビニルアルコールやポリビニルピロリドン等の皮膜形成剤も含まれる。

動物または微生物由来抽出物としては、幼牛血液抽出液、血清除蛋白、脾臓、トリ等の卵成分、卵殻膜抽出物、鶏冠抽出物、貝殻抽出物、貝肉抽出物、ローヤルゼリー、シルクプロテイン及びその分解物又はそれらの誘導体、ヘモグロビン又はその分解物、ラクトフェリン又はその分解物、イカスミ等の軟体動物、魚肉等、哺乳類、鳥類、貝類、昆虫類、魚類、軟体動物類、甲殻類等の動物由来の抽出物、靈芝抽出物等の微生物由来の抽出物等が挙げられる。動物または微生物由来抽出物を配合することによって、保湿効果、細胞賦活効果、美白効果、抗炎症効果、皮膚老化防止効果、活性酸素除去効果、血行促進効果等を付与することができる。

植物抽出物としては、植物の抽出部位や、抽出方法等に特に制限はなく、例え

ば植物の全草、又は根、茎、幹、樹皮、幼芽、葉、花、果実、種子等から抽出することが出来、これらを乾燥、細切、圧搾、或いは発酵等、適宜処理を施し、種々の適当な溶媒を用いて低温もしくは室温～加温下で抽出することができる。抽出溶媒としては、例えば水；メチルアルコール、エチルアルコール等の低級1価アルコール；グリセリン、プロピレングリコール、1，3-ブチレングリコール等の液状多価アルコール等の1種または2種以上を用いることができる。また、ヘキサン、アセトン、酢酸エチル、エーテル等の親油性溶媒を用いて抽出することもでき、その他、スクワラン等の油性成分等により抽出したものでも良い。得られた抽出液は濾過またはイオン交換樹脂を用い、吸着、脱色、精製して溶液状、ペースト状、ゲル状、粉末状とすることもできる。必要ならば、効果に影響のない範囲で更に、脱臭、脱色等の精製処理をしても良い。植物としては、アスパラガス、エイジツ、キイチゴ、クジン、ケイケツトウ、ゴカヒ、コーヒー、コメ、サイシン、サンザシ、シラユリ、シャクヤク、茶、ブナ、ホップ、モッカ、ユキノシタ、アルテア、アシタバ、インチンコウ、イラクサ、オウバク、オトギリソウ、キンギンカ、サルビア、シコン、シラカバ、ムクロジ、レンゲソウ、オオムギ、タイソウ、ローズマリー、オウレン、グレープフルーツ、ゲンチアナ、サボンソウ、ショウブ、ジオウ、センキュウ、ゼニアオイ、ハマメリス、フキタンポポ、ブルーネ、ボダイジュ、マロニエ、マルメロ等が挙げられる。植物抽出物を配合することによって、保湿効果、細胞賦活効果、美白効果、抗炎症効果、皮膚老化防止効果、活性酸素除去効果、血行促進効果等を付与することができる。

抗菌剤としては、安息香酸、安息香酸ナトリウム、パラオキシ安息香酸エステル、パラクロルメタクレゾール、塩化ベンザルコニウム、フェノキシエタノール、イソプロピルメチルフェノール等が挙げられる。

その他、一般に使用される防腐剤、色素、増粘剤、香料、美容成分等を必要に応じて適宜配合することができる。

また、乳糖、ブドウ糖などの糖類、デキストリン、セルロース、ケイ酸（塩）、炭酸カルシウム等の賦形剤、セルロース、デンプン、ゼラチン、糖類等の結合剤、カンテン末、ゼラチン末、アルギン酸ナトリウム、セルロース誘導体、炭酸カルシウム等の崩壊剤と共に製剤化することができる。また、液体にも、固体にも、半固体状、乳化状、ムース状にも調製することができる。

本発明の皮膚外用剤は、常法に従って製造することができ、乳液、クリーム、化粧水、美容液、クレンジング、パック、洗浄料、ファンデーション等や、その他分散状、顆粒状、軟膏状等、種々の剤型の皮膚外用剤とすることができる。

加えて、本抽出物はオリーブから好適に得られるものであることから、オリーブに含まれるその他の成分が含まれる場合がある。オリーブに含まれるその他の成分とは、例えばオレアノール酸やウルソール酸等のトリテルペン類、 $\beta$ -シトステロールやカンベステロール等のステロール類、オリユーロペイン、ベルバスコシド、リグストロシド、チロソール、ヒドロキシチロソール、ルチン等のポリフェノール類等が含まれる場合がある。

必要に応じて上記成分を含有させることができ、それにより、それぞれの成分の有する効果を享受することができる。

本発明はまた、オリーブの果実から抽出される、油分を含有する含油抽出物に関する。さらに本発明は、上記含油組成物に乳化剤を加えてなる美白効果を有する乳化組成物に関する。

本抽出物中の難水溶性成分はオリーブ油にも含有され得ることから、本発明の皮膚外用剤の油性成分としてオリーブ油を使用することで、さらに好適な美白効果等を有する皮膚外用剤が得られる。さらに、油分を含む実から抽出する場合、油分を含有する含油抽出物を得ることができ、油分を含んだ実から抽出される含油抽出物は、皮膚外用剤が油分を必要とするものである場合に好適に使用できる利点がある。また、この含油抽出物に乳化剤を添加することで、オリーブ10

0%の乳化組成物が得られ、これを皮膚外用剤に配合することができる。特に、皮膚外用剤は、乳化物状で使用される場合も多いため、この該乳化組成物は、好適に配合、もしくは、他の物質を配合するためのベースとして好適に使用できる。

また、当該乳化組成物は、オリーブのみからなるため、天然由来であり、合成品と比べて安心感を与える。また、オリーブのイメージも良好であるため、使用する者に対して、より、良好な印象と、安心感を与える、オリーブ全体の有効活用という面からも、好適な活用方法であるといえる。

上記の乳化剤としては、非イオン性として、モノステアリン酸グリセリン、ポリオキシエチレン (POE) ソルビタン脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、POEアルキルエーテル、POE・ポリオキシプロピレン (POP) ブロックポリマー、POE硬化ヒマシ油エステル等があげられ、陰イオン性として脂肪酸セッケン、アルキル硫酸ナトリウム等が挙げられる。

また、本発明は本抽出物を有効成分とする各種製剤に関するものであり、特に本抽出物を有効成分とする美肌剤に関し、美白剤、皮膚の抗老化剤に関する。

本抽出物を有効成分とする美肌剤に関する。有効成分とは目的とする効果が得られる程度に該抽出物を含むことをいい、その含量は特に制限されない。目的とする美肌効果の度合い、使用態様、使用量、抽出物の濃縮や分画・精製度合い等により異なり適宜調整することができ、上述の様に含量は特に制限されないが、例えば0.001質量%以上、好ましくは0.01~99.9質量%、更に好ましくは0.05~99.5質量%である。抽出物はオリーブ植物および／またはオリーブ油製造工程で得られる生成物を水および／または有機溶媒で抽出処理して得ることができ、更に抽出物を濃縮処理および／または分画・精製処理することで、効果が強化された美肌剤を得ることができる。該美肌剤は水溶性成分および難水溶性成分を含んでいるので、水系、油系での使用において、不溶分を除去して利用することができる。また、乳化等することでも好適に利用することがで

きる。また、該美肌剤は、人体やその他飲食物、医薬品、肥料、飼料や皮膚外用剤に使用することができる。また、経口等により内服することも、皮膚等に塗布することもできる。該美肌剤を皮膚に対して使用する場合、皮膚を美しくする目的で直接塗布しても良く、皮膚外用剤等の原料として用いても良い。

本発明はまた、上記皮膚に対する抗老化効果を有する抽出物を含有する皮膚に対する抗老化剤に関する。さらに本発明は、上記抽出物及び／又は上記皮膚に対する抗老化剤を含有する化粧料に関する。

本抽出物を有効成分とする皮膚の抗老化剤に関する。上記同様に有効成分とは目的とする効果が得られる程度に該抽出物を含むことをいい、その含量は特に制限されない。目的とする皮膚への抗老化効果の度合い、使用態様、使用量、抽出物の濃縮や分画・精製度合い等により異なり適宜調整することができ、上述の様に含量は特に制限されないが、例えば0.01質量%以上、好ましくは0.1質量%以上、より好ましくは0.1～99.9質量%、更に好ましくは0.5～99.5質量%、特に好ましくは1～95質量%、最も好ましくは2～90質量%である。抽出物はオリーブ植物および／またはオリーブ油製造工程で得られる生成物を水および／または有機溶媒で抽出処理して得ることができ、更に抽出物を濃縮処理および／または分画・精製処理することで、効果が強化された皮膚への抗老化剤を得ることができる。該皮膚への抗老化剤は水溶性であるので、水系への利用が特に好適である。油系へも乳化等することで利用することができる。該皮膚への抗老化剤は、人体やその他飲食物、医薬品、肥料、飼料や皮膚外用剤に使用することができる。また、経口等により内服することも、皮膚等に塗布することもできる。該皮膚への抗老化剤を皮膚に対して使用する場合、皮膚に抗老化効果を得る目的で直接塗布しても良く、皮膚外用剤等の原料として用いても良い。

本発明はまた、上記美白効果を有する抽出物を有効成分とする美白剤に関する。



さらに本発明は、上記美白効果を有する抽出物及び／又は上記美白剤を含有する美白剤に関する。

上記同様に有効成分とは目的とする効果が得られる程度に該抽出物を含むことをいい、その含量は特に制限されない。目的とする美白効果の度合い、使用態様、使用量、抽出物の濃縮や分画・精製度合い等により異なり適宜調整することができ、上述の様に含量は特に制限されないが、例えば0.001質量%以上、好ましくは0.01～99.9質量%、更に好ましくは0.05～99.5質量%、特に好ましくは0.5質量%以上、さらに特に好ましくは1～95質量%、最も好ましくは2～90質量%である。抽出物はオリーブ植物および／またはオリーブ油製造工程で得られる生成物を水および／または有機溶媒で抽出処理して得ることができ、更に抽出物を濃縮処理および／または分画・精製処理することで、効果が強化された美肌剤を得ることができる。該美白剤は難水溶性であるため、油系への利用が特に好適である。水系へも乳化等することで使用することができる。また、該美白剤は、人体やその他飲食物、医薬品、肥料、飼料や皮膚外用剤に使用することができる。また、経口等により内服することも、皮膚等に塗布することもできる。該美肌剤を皮膚に対して使用する場合、皮膚を美白する目的で直接塗布しても良く、皮膚外用剤等の原料として用いても良い。

上記美肌剤は一般的な方法により製剤化できるが、有効成分として含有される本抽出物は、粗抽出物でも濃縮および／または分画・精製されたものでも良い。美肌剤が有する皮膚の抗老化効果や美白効果等の美肌効果に関しては、本抽出物の水溶性成分の画分等を含有する美肌剤の方が皮膚の抗老化効果が強く、本抽出物の難水溶性成分の画分等を含有する美肌剤の方が美白効果が強いため、求める美肌効果に応じて、水溶性成分および／または難水溶性成分を濃縮および／または分画・精製した抽出物を用いることが好ましい。

上記皮膚の抗老化剤も一般的な方法により製剤化できるが、有効成分として含

有される本抽出物は、粗抽出物でも濃縮および／または分画・精製されたものでも良く、特に水溶性成分を濃縮および／または分画・精製した抽出物を用いることが好ましい。本抽出物に関し、水溶性成分の画分等を含有する方が該抗老化剤の皮膚の抗老化効果が強いため、該水溶性成分を濃縮等した抽出物を用いることが好ましい。

上記美白剤も一般的な方法により製剤化できるが、有効成分として含有される本抽出物は、粗抽出物でも濃縮および／または分画・精製されたものでも良く、特に難水溶性成分を濃縮および／または分画・精製した抽出物を用いることが好ましい。本抽出物に関し、難水溶性成分の画分等を含有する方が美白剤の美白効果が強いため、該難水溶性成分を濃縮等した抽出物を用いることが好ましい。

本発明の皮膚外用剤は、乾燥することで粉末等の固体状にしたもの、水や溶媒で希釈することで液状にしたもの、その他、乳化状、ゲル状にしたもののいずれでも用いることができるが、さらに、散剤、カプセル剤（硬カプセル剤、軟カプセル剤など）、顆粒剤（コーティングした物、丸剤、トローチ剤、液剤、またはこれらの製剤学的に許容され得る徐放化製剤など）などにより、製剤化することもできる。

これらの製剤は公知の製剤学的製法に準じ、製剤として薬理学的に許容され得る基剤、担体、賦形剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤等と共に用いることもできる。

これらの製剤に用いる担体や賦形剤としては、例えば乳糖、ブドウ糖、白糖、マンニトール、馬鈴薯デンプン、トウモロコシデンプン、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム、硫酸カルシウム、結晶セルロース、カンゾウ末、ゲンチアナ末などが挙げられる。

これらの製剤に用いる結合剤としては、例えばデンプン、トラガントゴム、ゼラチン、シロップ、ポリビニルアルコール、ポリビニルエーテル、ポリビニルピロリドン、ヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロース、エチルセルロー

ス、カルボキシメチルセルロースなどが挙げられる。

これらの製剤に用いる崩壊剤としては例えばデンプン、寒天、ゼラチン末、カルボキシメチルセルロースナトリウム、カルボキシメチルセルロースカルシウム、結晶セルロース、炭酸カルシウム、炭酸水素ナトリウム、アルギン酸ナトリウムなどが挙げられる。

これらの製剤に用いる滑沢剤としては例えばステアリン酸マグネシウム、タルク、水素添加植物油、マクロゴールなどが挙げられる。

これらの製剤に用いる着色剤としては、通常添加することが許容されているものを、それぞれ用いることができる。

錠剤、顆粒剤を調製する場合は、必要に応じて、白糖、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロース、精製セラック、ゼラチン、グリセリン、ソルビトール、エチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、フタル酸セルロースアセテート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、メチルメタクリレート、メタアクリル酸重合体などで被膜しても良いし、2つ以上の層で被膜しても良い。さらにエチルセルロースやゼラチンのような物質のカプセルでも良い。

皮膚に塗布する場合の形態としては、固体、半固体、半固体状、または液状の製剤が挙げられる。

液状製剤としては、例えば製剤学的に許容される乳剤あるいはローション剤などの乳濁剤、外用チンキ剤などが挙げられる。この製剤は通常用いられる希釈剤としては、例えばエタノール、油分、乳化剤などを含む。

半固体製剤としては、例えば油性軟膏、親水性軟膏などの軟膏剤が挙げられる。この製剤は通常用いられる基剤あるいは担体として、例えば、水、ワセリン、ポリエチレングリコール、油分、界面活性剤などを含む。

半固体あるいは固体製剤としては、例えば硬膏（ゴム膏、プラスターなど）、

フィルム剤、テープ剤、あるいはパップ剤、バック剤、入浴剤などが挙げられる。この製剤は通常用いられる基剤あるいは担体として、例えば天然ゴム、ブタジエンゴム、SBR、SISなどの合成ゴムなどのゴム系高分子、ゼラチン、カオリン、酸化亜鉛などの泥状化剤、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリアクリル酸ナトリウムなどの親水性高分子、アクリル樹脂、流動パラフィンなどの粘着付与剤、水、その他の油分、界面活性剤を含む。

これらの製剤は、さらに安定化剤、溶解補助剤、経皮吸収促進剤のような補助剤、あるいは芳香剤、防腐剤などの添加剤などを用いても良い。

本発明は前記美肌剤を含有する皮膚外用剤に関する。該美肌剤を含有させることで美肌効果を有する皮膚外用剤を得ることができる。美肌剤は皮膚外用剤の目的とする効果の度合い、使用態様、使用量、美肌剤の強さによって適宜調整することができ、例えば0.0001～50質量%、好ましくは0.0001～40質量%、更に好ましくは0.0001～30質量%であるが、これに特に制限されるものではない。また、皮膚外用剤における抽出物当りでの含量が、例えば、0.0001～30質量%、好ましくは0.0001～20質量%、更には0.0001～10質量%に入るような範囲であることが好ましい。

また、本発明は前記皮膚の抗老化剤および／または前記美白剤を含有する皮膚外用剤に関する。該美肌剤や皮膚の抗老化剤、該美白剤を含有させることで、皮膚に対する抗老化効果や美白効果を有する皮膚外用剤を得ることができる。これらの抗老化剤、美白剤はそれぞれ皮膚外用剤の目的とする効果の度合い、使用態様、使用量、抗老化剤および美白剤の強さによって適宜調整することができ、例えば0.0001～50質量%、好ましくは0.0001～40質量%、更に好ましくは0.0001～30質量%であるが、これに特に制限されるものではない。また、皮膚外用剤における抽出物当りでの含量が、例えば、0.0001～30質量%、好ましくは0.0001～20質量%、更には0.0001～10質量%

に入るような範囲であることが好ましい。

本発明の美白効果を有する抽出物は、求める美白効果の強さ、配合する対象物に応じ、適宜調整できる。かかる抽出物の化粧料等の皮膚外用剤への配合量は、原料の違いや、各々の水溶性成分の違いにより一律に規定し難いが、例えば、本発明の抽出物を配合する場合は0.05～30質量%、好ましくは0.1～20質量%、さらに好ましくは0.3～10質量%配合する。よって、本発明の抽出物及び／又は美白剤を含有する化粧料等は、人体にとって安全で、保存安定性が良い、皮膚への美白効果を有する化粧料等であるといえる。

また、本発明の抽出物及び／又は抗老化剤は、化粧料、医薬部外品、医薬品等の皮膚外用剤に好適に配合することができる。本抽出物含有量は、得たい皮膚に対する抗老化効果の強さ、配合する対象物に応じ、適宜調整できる。特に以下に示す量に限定されないが、0.01～50質量%、好ましくは0.05～30質量%、さらに好ましくは0.1～30質量%配合する。よって、本発明の抽出物及び／又は皮膚に対する抗老化剤を含有する化粧料等は、人体にとって安全で、保存安定性が良い、皮膚への抗老化効果を有する化粧料等であるといえる。

本発明の皮膚外用剤を用いることにより、皮膚の抗老化効果や美白効果等による美肌効果、すなわち、皮膚に対してハリ、ツヤを与え、シワやたるみの形成を防止する等の優れた皮膚抗老化効果や、皮膚に対して色黒、シミ、ソバカス、くすみ等を防止する等の優れた美白効果等による美肌効果が得ることができる。

さらに、オリーブ植物から容易に得ることができ、また、オリーブ油の製造工程中に発生する通常は廃棄されている生成物からも好適に得ることができることから、コスト面、安定的な供給という面、資源の有効活用という面からみても好ましい。

### 実施例

次に、実施例を挙げ、本発明をさらに説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

実施例 1～19、比較例 1 において各種抽出物を製造した。また、収率については下記の＜式 9＞で求めた。

＜式 9＞ 抽出物の収率＝本抽出物の質量（注 1）÷抽出前の原料の質量（注 2）

注 1：凍結乾燥により乾燥させた後、質量（g）を測定

注 2：本抽出物を、溶剤等で抽出する直前の果実、粕、種子の質量（g）を測定

### 実施例 1

国産のオリーブ（*Olea europaea* L.）の乾燥果実（種子を含む）1 kg を破碎し、3 L のヘキサンを加え 3 時間抽出した。これを 4 度繰り返した脱脂果実について、種子を除去した後、粉碎し、再度 5 倍量のヘキサンで 3 時間抽出することで、完全に油分を除去した脱脂粕 229 g を得た。この脱脂粕に 10 倍量のエタノール含量が 60 質量％の含水エタノール水溶液を加え、室温で激しく攪拌しながら 3 時間抽出した。全量をろ過後、ろ液を濃縮乾固して抽出物 112.7 g を得た。

得られた抽出物に関し、スーパーオキシド消去活性およびヒドロキシラジカル消去活性の評価を行った。その結果を表 1 および表 2 に示す。また、得られた抽出物のメラニン生成抑制機能の評価結果と細胞生存率の結果を表 3 に、収率、メラニン生成抑制機能指数、実質メラニン生成抑制機能指数、メラニン生成抑制機能収量指数、実質メラニン生成抑制機能収量指数を表 4 に示す。

### 実施例 2

実施例 1 と同様の方法により得た脱脂粕に、10 倍量のエタノール含量が 80

質量%の含水エタノール水溶液を加え、同様に室温で激しく攪拌しながら3時間抽出した。全量をろ過後、ろ液を濃縮乾固して抽出物79.7gを得た。

得られた抽出物に関し、スーパーオキシド消去活性の評価を行った結果を表1に示す。また、得られた抽出物のメラニン生成抑制機能の評価結果（細胞白色化度と細胞生存率）を表3に、収率、メラニン生成抑制機能指数、実質メラニン生成抑制機能指数、メラニン生成抑制機能収量指数、実質メラニン生成抑制機能収量指数を表4に示す。

### 実施例3

実施例1と同様の方法により得た脱脂粕に、10倍量のエタノール含量が70質量%の含水エタノール水溶液を加え、同様に室温で激しく攪拌しながら3時間抽出した。全量をろ過後、ろ液を濃縮乾固して抽出物97.8gを得た。

得られた抽出物に関し、スーパーオキシド消去活性の評価を行った結果を表1に示す。また、得られた抽出物のメラニン生成抑制機能の評価結果（細胞白色化度と細胞生存率）を表3に、収率、メラニン生成抑制機能指数、実質メラニン生成抑制機能指数、メラニン生成抑制機能収量指数、実質メラニン生成抑制機能収量指数を表4に示す。

### 実施例4

実施例1と同様の方法により得た脱脂粕に、10倍量のエタノール含量が50質量%の含水エタノール水溶液を加え、同様に室温で激しく攪拌しながら3時間抽出した。全量をろ過後、ろ液を濃縮乾固して抽出物111.1gを得た。

得られた抽出物に関し、スーパーオキシド消去活性の評価を行った結果を表1に示す。また、得られた抽出物のメラニン生成抑制機能の評価結果（細胞白色化度と細胞生存率）を表3に、収率、メラニン生成抑制機能指数、実質メラニン生

成抑制機能指数、メラニン生成抑制機能収量指数、実質メラニン生成抑制機能収量指数を表4に示す。

#### 実施例 5

実施例1と同様の方法により得た脱脂粕に、10倍量のエタノール含量が40質量%の含水エタノール水溶液を加え、同様に室温で激しく攪拌しながら3時間抽出した。全量をろ過後、ろ液を濃縮乾固して抽出物112.9gを得た。

得られた抽出物に関し、スーパーオキシド消去活性の評価を行った結果を表1に示す。また、得られた抽出物のメラニン生成抑制機能の評価結果（細胞白色化度と細胞生存率）を表3に、収率、メラニン生成抑制機能指数、実質メラニン生成抑制機能指数、メラニン生成抑制機能収量指数、実質メラニン生成抑制機能収量指数を表4に示す。

#### 実施例 6

実施例1と同様の方法により得た脱脂粕に、10倍量のエタノール含量が20質量%の含水エタノール水溶液を加え、同様に室温で激しく攪拌しながら3時間抽出した。全量をろ過後、ろ液を濃縮乾固して抽出物110.6gを得た。

得られた抽出物に関し、スーパーオキシド消去活性の評価を行った結果を表1に示す。また、得られた抽出物のメラニン生成抑制機能の評価結果（細胞白色化度と細胞生存率）を表3に、収率、メラニン生成抑制機能指数、実質メラニン生成抑制機能指数、メラニン生成抑制機能収量指数、実質メラニン生成抑制機能収量指数を表4に示す。

#### 実施例 7

実施例1と同様の方法により得た脱脂粕に、10倍量の無水エタノールを加え、



同様に室温で激しく攪拌しながら3時間抽出した。全量をろ過後、ろ液を濃縮乾固して抽出物13.5gを得た。

得られた抽出物に関し、スーパーオキシド消去活性の評価を行った結果を表1に示す。また、得られた抽出物のメラニン生成抑制機能の評価結果（細胞白色化度と細胞生存率）を表3に、収率、メラニン生成抑制機能指数、実質メラニン生成抑制機能指数、メラニン生成抑制機能収量指数、実質メラニン生成抑制機能収量指数を表4に示す。

#### 実施例8

実施例1と同様の方法により得た脱脂粕に、10倍量の水を加え、同様に室温で激しく攪拌しながら3時間抽出した。全量をろ過後、ろ液を濃縮乾固して抽出物118.2gを得た。

得られた抽出物に関し、スーパーオキシド消去活性の評価を行った結果を表1に示す。

#### 実施例9

実施例1と同様の方法により得た脱脂粕に、10倍量のアセトン含量が60質量%の含水アセトンを加え、同様に室温で激しく攪拌しながら3時間抽出した。全量をろ過後、ろ液を濃縮乾固して抽出物51.5gを得た。

得られた抽出物に関し、スーパーオキシド消去活性の評価を行った結果を表1に示す。

#### 実施例10

実施例1と同様の方法により得た脱脂粕に、10倍量のTHF含量が60質量%の含水THFを加え、同様に室温で激しく攪拌しながら3時間抽出した。全

量をろ過後、ろ液を濃縮乾固して抽出物 54.3 g を得た。

得られた抽出物に関し、スーパーオキシド消去活性の評価を行った結果を表 1 に示す。

#### 実施例 11

実施例 1 と同様の方法により得た脱脂粕に、10 倍量の AN 含量が 60 質量% の含水 AN を加え、同様に室温で激しく攪拌しながら 3 時間抽出した。全量をろ過後、ろ液を濃縮乾固して抽出物 49.6 g を得た。

得られた抽出物に関し、スーパーオキシド消去活性の評価を行った結果を表 1 に示す。

#### 実施例 12

種子を除去したオリーブの乾燥果実 1 kg を破碎し、その破碎した果実に、20 倍量のエタノール含量が 60 質量% の含水エタノール水溶液を加え、同様に室温で激しく攪拌しながら 3 時間抽出した。全量をろ過後、ろ液を濃縮乾固して抽出物 238.5 g 抽出物にヘキサン 1.5 L、水 1.5 L を加えてよく攪拌した後、分液された水相を濃縮乾固して、分配抽出物 126.4 g を得た。

得られた抽出物に関し、スーパーオキシド消去活性の評価を行った結果を表 1 に示す。また、得られた抽出物のメラニン生成抑制機能の評価結果（細胞白色化度と細胞生存率）を表 3 に、収率、メラニン生成抑制機能指数、実質メラニン生成抑制機能指数、メラニン生成抑制機能収量指数、実質メラニン生成抑制機能収量指数を表 4 に示す。

#### 実施例 13

オリーブの種子 500 g を破碎し、その破碎した種子に 10 倍量のエタノール

含量が60質量%の含水エタノール水溶液を加え、同様に室温で激しく攪拌しながら3時間抽出した。全量をろ過後、ろ液を濃縮乾固して抽出物42.0gを得た。

得られた抽出物に関し、スーパーオキシド消去活性の評価を行った結果を表1に示す。また、得られた抽出物のメラニン生成抑制機能の評価結果（細胞白色化度と細胞生存率）を表3に、収率、メラニン生成抑制機能指数、実質メラニン生成抑制機能指数、メラニン生成抑制機能収量指数、実質メラニン生成抑制機能収量指数を表4に示す。

#### 実施例14

イタリア産のオリーブ (*Olea europaea* L.) を搾油し、得られた圧搾残渣1kgに、3Lのヘキサンを加え3時間抽出した。これを4度繰り返した脱脂残渣(884g)について、種子および夾雑物をフルイで適当に除去して、脱脂粕196gを得た。この脱脂粕に10倍量のエタノール含量が60質量%の含水エタノール水溶液を加え、室温で激しく攪拌しながら3時間抽出した。全量をろ過後、ろ液を濃縮乾固して抽出物19.2gを得た。

得られた抽出物に関し、スーパーオキシド消去活性の評価を行った結果を表1に示す。また、得られた抽出物のメラニン生成抑制機能の評価結果（細胞白色化度と細胞生存率）を表3に、収率、メラニン生成抑制機能指数、実質メラニン生成抑制機能指数、メラニン生成抑制機能収量指数、実質メラニン生成抑制機能収量指数を表4に示す。

#### 実施例15

実施例14と同様の方法により得た脱脂粕に、10倍量のエタノール含量が70質量%の含水エタノール水溶液を加え、室温で激しく攪拌しながら3時間抽出

した。全量をろ過後、ろ液を濃縮乾固して抽出物 17.4 g を得た。

得られた抽出物に関し、スーパーオキシド消去活性の評価を行った結果を表 1 に示す。また、得られた抽出物のメラニン生成抑制機能の評価結果（細胞白色化度と細胞生存率）を表 3 に、収率、メラニン生成抑制機能指数、実質メラニン生成抑制機能指数、メラニン生成抑制機能収量指数、実質メラニン生成抑制機能収量指数を表 4 に示す。

#### 実施例 16

イタリア産のオリーブ (*Olea europaea* L.) を搾油し、得られた圧搾残渣 1 kg に、3 L のヘキサンを加え 3 時間抽出した。これを 4 度繰り返した脱脂残渣 884 g について、種子等を除去すること無く、これを粉碎し、粉碎脱脂残渣 873 g を得た。この粉碎脱脂残渣に 10 倍量のエタノール含量が 60 質量%の含水エタノール水溶液を加え、室温で激しく攪拌しながら 3 時間抽出した。全量をろ過後、ろ液を濃縮乾固して抽出物 39.5 g を得た。

得られた抽出物に関し、スーパーオキシド消去活性の評価を行った結果を表 1 に示す。また、得られた抽出物のメラニン生成抑制機能の評価結果（細胞白色化度と細胞生存率）を表 3 に、収率、メラニン生成抑制機能指数、実質メラニン生成抑制機能指数、メラニン生成抑制機能収量指数、実質メラニン生成抑制機能収量指数を表 4 に示す。

#### 実施例 17

実施例 16 と同様にして得た粉碎脱脂残渣に、10 倍量のエタノール含量が 60 質量%の含水エタノール水溶液を加え、室温で激しく攪拌しながら 3 時間抽出した。全量をろ過後、得られたろ液を完全に脱エタノールして得られた抽出物の水層部分に、水不溶分回収の効率を上げることを目的として、総量が 830 g に

なるように水を加え、室温で1時間、激しく攪拌した。全量を遠心分離で処理して沈殿分を除去した後、デカンテーションにより回収した上澄みを乾燥して濃縮物22.9gを得た。

濃縮して得られた抽出物に関し、スーパーオキシド消去活性の評価を行った結果を表1に示す。

#### 実施例18

実施例1で得られた抽出物100gに、水2Lを加え、室温で1時間、激しく攪拌した。全量を遠心分離で処理した後、上澄みはデカンテーションにより除去し、残った沈殿を乾燥して抽出濃縮物10.0gを得た。

濃縮して得られた抽出物に関し、メラニン生成抑制機能の評価結果（細胞白色化度と細胞生存率）を表3に、収率、メラニン生成抑制機能指数、実質メラニン生成抑制機能指数、メラニン生成抑制機能収量指数、実質メラニン生成抑制機能収量指数を表4に示す。

#### 実施例19

実施例14で得られた抽出物100gに、水2Lを加え、室温で1時間、激しく攪拌した。全量を遠心分離で処理した後、上澄みはデカンテーションにより除去し、残った沈殿を乾燥して抽出濃縮物42.0gを得た。

濃縮して得られた抽出物に関し、メラニン生成抑制機能の評価結果（細胞白色化度と細胞生存率）を表3に、収率、メラニン生成抑制機能指数、実質メラニン生成抑制機能指数、メラニン生成抑制機能収量指数、実質メラニン生成抑制機能収量指数を表4に示す。

### 比較例 1

乾燥ゴマ種子 1 kg を破碎し、3 L のヘキサンを加え 3 時間抽出した。これを 4 度繰り返したゴマ脱脂粕 526.4 g を得た。このゴマ脱脂粕に 10 倍量のエタノール含量が 60 質量%の含水エタノール水溶液を加え、室温で激しく攪拌しながら 3 時間抽出した。全量をろ過後、ろ液を濃縮乾固して抽出物 58.2 g を得た。

このゴマ種子から得られた抽出物に関し、スーパーオキシド消去活性およびヒドロキシラジカル消去活性の評価を行った。その結果を表 1 および表 2 に示す。また、得られた抽出物のメラニン生成抑制機能の評価結果（細胞白色化度と細胞生存率）を表 3 に、収率、メラニン生成抑制機能指数、実質メラニン生成抑制機能指数、メラニン生成抑制機能収量指数、実質メラニン生成抑制機能収量指数を表 4 に示す。

比較例 2 として、合成のスーパーオキシド消去活性を有する合成の抗酸化剤である BHA に関し、スーパーオキシド消去活性の評価を行った。結果を表 1 に示す。

比較例 3 としてビタミン C リン酸マグネシウム、比較例 4 としてコウジ酸に関しメラニン生成抑制機能の評価を行い、その結果（細胞白色化度と細胞生存率）を表 3 に、メラニン生成抑制機能指数、実質メラニン生成抑制機能指数を表 4 に示す。

以下に、活性酸素除去機能、メラニン生成抑制機能について、その評価方法および評価結果を示す。活性酸素除去機能に関しては、スーパーオキシド消去活性、ヒドロキシラジカル消去活性についての評価方法および評価結果を示す。

#### <スーパーオキシド消去活性の評価方法>

スーパーオキシド消去活性の評価は、金田尚志、上田伸夫編集、「過酸化脂質実験法」、第136-154頁、医歯薬出版(株)1993年発刊に記載されている方法に従い、以下のように測定した。炭酸水素ナトリウム緩衝液(pH10.2)1.2mLに1mg/mLのEDTA溶液50 $\mu$ L、1.5mg/mLウシ血清アルブミン(BSA)溶液50 $\mu$ L、0.6mg/mLニトロブルーテトラゾリウム(NBT)溶液50 $\mu$ L、0.5mg/mLキサンチン溶液50 $\mu$ L、および、オリーブ抽出物を所定の濃度で溶解させた「試料溶液」0.1mLを加え混和した後、25 $^{\circ}$ Cにて10分放置する。これに0.1unit/mLキサンチンオキシダーゼ(XOD)溶液50 $\mu$ Lを加え攪拌し、25 $^{\circ}$ Cにて20分間放置した。1mg/mL塩化銅溶液50 $\mu$ Lを加え酵素反応を停止させた後、560nmの吸光度値(G)を測定し、「試料溶液」の代わりに同量の「緩衝液」を加えた物を対照溶液として同様に吸光度値(H)を測定した。また、塩化銅溶液と、「試料溶液」または「緩衝液」の添加順を逆にしたものを、それぞれ試薬ブランクとして同様に吸光度を測定し、それぞれの値をg、hとした。

一方、比較用の抗酸化剤としては、市販の抗酸化剤であるブチルヒドロキシアニソール(BHA)を用いた。BHAについては上記の測定方法を、以下の点を変更して吸光度値(G)測定した。すなわち、炭酸ナトリウム緩衝液(pH10.2)は1.25mLの添加量、メタノールを用いて所定の濃度で溶解した「BHA溶液」は50 $\mu$ Lの添加量とし、また、XOD溶液は0.2unit/mLの濃度で調製したものをを用いた。「BHA溶液」の代わりに同量の「メタノール」を添加したものを対照溶液として、吸光度値(H)を測定した。また、塩化銅溶液と「BHA溶液」または「メタノール」の添加順を逆にしたものを、それぞれ試薬ブランクとして同様に吸光度値を測定し、それぞれの値をg、hとした。

そして、以下の<式10>からスーパーオキシドの消去活性を算出した。ここで、式中の(I)は測定溶液系中の試料濃度を示しており、スーパーオキシドが消去されることにより吸光度値が0.1減少する活性を1単位(1unit)と定義した。この活性値が高いほどスーパーオキシド消去作用が強いことを示している。

$$\text{<式10> スーパーオキシド消去活性 (unit / (mg/mL)) = \{ (H - h) - (G - g) \} / (I \times 0.1)}$$



表 1

実施例	原料	抽出液	収率 (%)	スーパ-オキシド 消去活性 [unit/(mg/mL)]	スーパ-オキシド 消去活性 収量指数
実施例 1	脱脂粕①	60% : 含水エタノール	49.2	60	2952
実施例 2	脱脂粕①	80% : 含水エタノール	34.8	31.2	1087
実施例 3	脱脂粕①	70% : 含水エタノール	42.7	68	2904
実施例 4	脱脂粕①	50% : 含水エタノール	48.5	58	2813
実施例 5	脱脂粕①	40% : 含水エタノール	49.3	56.3	2775
実施例 6	脱脂粕①	20% : 含水エタノール	48.3	33.6	1623
実施例 7	脱脂粕①	100% : 無水エタノール	5.9	25.9	153
実施例 8	脱脂粕①	水	51.6	24.8	1281
実施例 9	脱脂粕①	60% : 含水アセトン	22.5	17.1	385
実施例 10	脱脂粕①	60% : 含水THF	23.7	18.9	448
実施例 11	脱脂粕①	60% : 含水AN	21.7	14.1	306
実施例 12	乾燥果実タネ無し	60% : 含水エタノール	12.6	42.4	534
実施例 13	脱脂種子粉碎物	60% : 含水エタノール	8.4	25.4	213
実施例 14	脱脂粕②	60% : 含水エタノール	9.8	23.4	229
実施例 15	脱脂粕②	70% : 含水エタノール	8.9	29.5	263
実施例 16	脱脂粕③	60% : 含水エタノール	4.5	22.8	103
実施例 17	実施例 16 の濃縮物	水可溶分回収	2.6	39.5	103
比較例 1	ゴマ脱脂粕	60% : 含水エタノール	11.1	7	77
比較例 2	BHA			25	—

抽出液の%は溶剤の含量を示し、質量%を意味する。

脱脂粕①：国内産のオリブの乾燥果実から種子を除き、脱脂したもの

脱脂粕②：イタリア産のオリブの圧搾残渣から種子を除き、脱脂したもの

脱脂粕③：イタリア産のオリブの圧搾残渣を脱脂したもの（種子含む）

表 1 から、本抽出物は、非常に強いスーパーオキシド消去活性を有することがわかる。特に、水、無水アルコール、含水アルコールを用いて抽出した場合、本抽出物は天然の抽出物であるにもかかわらず、代表的な合成抗酸化物質である BHA と比較しても、同等～2 倍程度の消去活性を示している。単なる抽出物の段階でも、非常に強いスーパーオキシド消去活性を有することがわかる。

さらに、本抽出物は収率が高いことから、スーパーオキシド消去活性収量指数は更に高いものとなっている。この指数から見ても分かる通り、同じ条件の天然原料から、より多くの、強い活性酸素除去機能を有する抽出物を得ることができることがわかる。

#### <ヒドロキシラジカル消去活性の評価方法>

ヒドロキシラジカル消去活性は以下のように測定した。本実施例で用いた反応系はフェントン反応にてヒドロキシラジカルを発生させ、そのヒドロキシラジカルと脂肪酸との反応により生じるマロンジアルデヒド (MDA) をチオバルビツール酸と反応させたときに生成するチオバルビツール酸-MDA アダクトを測定する方法に基づいている。すなわち所定の濃度で溶解させた測定対象物を、リノール酸溶液 (2 mg/mL) およびドデシル硫酸ナトリウム (SDS, 2 mg/mL) を含む 30 mM の Tris 塩酸緩衝液 (pH 7.4) 0.46 mL で溶解し、2.5 mM 過酸化水素溶液 0.02 mL および 2.5 mM 塩化鉄 (II) 溶液 0.02 mL を加え、5 h、37°C で加温した。本抽出物、濃縮物および精製物を含まず同様に反応したものを対照とした。加温後、10 mg/mL ブチルヒドロキシルトルエン (BHT) エタノール溶液 0.01 mL を加えた。TBA 12 mg および SDS 16.2 mg を蒸留水 2.3 mL に溶解し、これに 20% (v/v) 酢酸緩衝液 (pH 4.0) 1.5 mL および前記反応液 0.2 mL を加え、95°C で 1 時間加温した。放冷後、(532 nm) における吸光度を測定した。各試料を含む反応液の吸光度を J、対照の吸光度を K とし、そのヒドロキシラジカル消去率を以下の<式 11>から算出した。ヒドロキシラジカル消去率が高い方がヒドロキシラジカル消去作用が強いことを示している。

$$\text{<式 11> ヒドロキシラジカル消去率 (\%) = \{1 - (K - J) / K\} \times 100}$$

上記ヒドロキシラジカル消去率（％）が50％となる測定対象物の濃度を比較し、ヒドロキシラジカル消去活性の強さを比較する。

表 2

	原料	抽出液	収率 (%)	ヒドロキシジカル消去率が 50%になる検体濃度 (mg/mL)
実施例 1	脱脂粕①	60%:含水エタノール	49.2	0.69
比較例 1	胡麻脱脂粕	60%:含水エタノール	11.1	0.65

抽出液の%は溶剤の含量を示し、質量%を意味する。  
 脱脂粕①：国内産のオリーブの乾燥果実から種子を除き、脱脂したもの

表2から、本抽出物はヒドロキシラジカル消去活性に関しても、ヒドロキシラジカル消去活性が強いとされているゴマ種子からの抽出物と比較して、同程度の消去活性を示している。また、このゴマ種子からの抽出物のスーパーオキシド消去活性と本抽出物のスーパーオキシド消去活性を比較すると、約8倍～9倍である。このように本抽出物は、強いスーパーオキシド消去活性とヒドロキシラジカル消去活性の両方を併せ持つ優れた活性酸素除去機能を有する抽出物であることがわかる。

#### <メラニン生成抑制機能の評価方法>

6穴プレートに培地を2ml/well取り、B-16メラノーマ細胞を所定量播種し、37℃、二酸化炭素濃度5%にて静置、培養する。翌日、所定濃度になるように検体試料（オリーブ各種抽出物）調製液を添加混和し、培養を継続する。培養5日目に培地を交換し、再度検体試料調製液を添加する。翌日、培地を除き、細胞を回収しPBS（リン酸緩衝生理食塩水）で洗浄後、細胞の白色化度により評価した。なお、メラニン産生抑制機能の評価は、検体試料調製液の代わりにアルブチン（ポジティブコントロール）300μg/mlを用いて同様の操作を行った細胞の白色化度、および、検体試料無添加（コントロール）で同様に

して得られた白色化度と比較して、以下の基準で評価した。

細胞の白色化度の評価基準は、以下に示す通りである。

++ : ポジティブコントロールより白くなった

＋ : ポジティブコントロールと同程度に白くなった

± : ポジティブコントロールより白くならないが、コントロールより白くなった

－ : コントロールと同程度

細胞生存率は、各添加濃度において、前述した<式5>により求められる。

上記方法によってメラニン生成抑制機能を評価した。

また、メラニン生成抑制機能指数を前記<式3>により算出し、同様に、実質メラニン生成抑制機能指数を前記<式6>、メラニン生成抑制機能収量指数を前記<式7>、実質メラニン生成抑制機能収量指数を前記<式8>により算出した。

表 3

	濃度 (ppm)														
	25	30	50	75	100	150	200	300	400	450	500	600	900	1000	1200
実施例1					—	±	±	±	+	++	++	++	++	++	1200
実施例2					100	100	100	100	100	100	100	100	58	21	N.D.
実施例3					—	—	±	±	+	++	++	++	++	N.D.	
実施例4					100	100	100	100	100	100	100	100	92	30	N.D.
実施例5					100	—	—	±	±	±	±	+	++	++	N.D.
実施例6					—	—	100	100	100	100	100	100	64	26	N.D.
実施例7					—	—	±	+	++	++	++	++	±	+	
実施例12					100	100	100	100	100	100	100	96	46	N.D.	
実施例13					100	100	100	100	100	100	100	100	81	38	N.D.
実施例14	—	—	±	+	++	++	100	77	67	60	55	44	21	14	N.D.
実施例15	—	—	±	+	++	++	100	100	100	100	100	92	36	N.D.	
実施例16	—	—	±	+	++	++	100	100	100	100	100	100	100	N.D.	
実施例18	±	+	++	++	++	++	100	100	100	100	100	100	35	N.D.	
実施例19	±	+	++	++	++	++	100	100	89	22	N.D.				
比較例1 (コア脱脂抽出物)	100	100	100	100	100	—	100	100	95	36	N.D.				
比較例3 (ヒタミシン酸マグネシウム)	100	100	100	100	100	—	±	±	±	±	±	+	++	N.D.	
比較例4 (コウジ酸)	100	100	100	100	100	100	100	95	81	66	23	N.D.			

N. D. は細胞生存率が10%以下であることを示す  
細胞白色度の基準となるアルブチンの濃度は300 ppm  
アルブチンがN. D. となる濃度は500 ppm



表 4

	原料	溶剤	濃縮	収率 (%)	アミン生成抑制機能 指数	実質アミン生成抑制機能 指数	アミン生成抑制機能 収量指数	実質アミン生成抑制機能 収量指数
実施例1	脱脂粕①	40%含水エタノール		49.2	1.0	2.4	49.2	118.1
実施例2	脱脂粕①	20%含水エタノール		34.8	1.0	2.0	34.8	69.6
実施例3	脱脂粕①	30%含水エタノール		42.7	1.0	2.0	42.7	85.4
実施例4	脱脂粕①	50%含水エタノール		48.5	0.8	1.8	36.4	87.3
実施例5	脱脂粕①	60%含水エタノール		49.3	0.6	1.4	29.6	71.0
実施例6	脱脂粕①	80%含水エタノール		48.3	0.5	1.5	24.2	72.5
実施例7	脱脂粕①	無水エタノール		5.9	1.2	2.4	7.1	14.2
実施例12	果実(種子除)	40%含水エタノール		12.6	1.0	2.4	12.6	30.2
実施例13	種子	35%含水エタノール		8.4	0.7	1.6	5.6	13.4
実施例14	脱脂粕②	40%含水エタノール		9.8	4.0	8.0	39.2	78.4
実施例15	脱脂粕②	30%含水エタノール		8.9	4.0	7.2	35.6	64.1
実施例16	脱脂粕③	40%含水エタノール		4.5	4.0	8.0	18.0	36.0
実施例18	脱脂粕①	40%含水エタノール	易水溶性分 除去	4.9	10.0	10.0	49.0	49.0
実施例19	脱脂粕②	40%含水エタノール	易水溶性分 除去	5.0	10.0	10.0	50.0	50.0
比較例1	ゴマ脱脂粕	40%含水エタノール		11.1	0.3	0.7	3.7	7.4
比較例3	ビタミンE酸マグネシウム	—		—	0.5	—	—	—
比較例4	コウジ酸	—		—	1.0	1.2	—	—

脱脂粕①：国内産のオリブの乾燥果実から種子を除き、脱脂したもの  
 脱脂粕②：イタリア産のオリブの圧搾残渣から種子を除き、脱脂したもの  
 脱脂粕③：イタリア産のオリブの圧搾残渣を脱脂したもの(種子含む)

表3、4の各実施例から、本抽出物は、天然原料からの単なる抽出物の状態で、優れたメラニン生成抑制機能を有する美白効果の強い美白剤として公知であるアルブチンやコウジ酸と同等以上のメラニン生成抑制機能を有し、さらに、ビタミンCリン酸マグネシウムを大幅に上回る、非常に強いメラニン生成抑制機能を有する。加えて、毒性が低いことから、実質メラニン生成抑制機能指数もアルブチン以上の値を示すことが分かった。従って、実際に皮膚に使用した場合には非常に優れた美白効果を有することが分かった。

また、実施例1、実施例14、比較例1とを比較すると分かる通り、本抽出物は、強いメラニン生成抑制機能を有するのと同時に、同じ条件の原料から収率良く得られるため、メラニン生成抑制機能収量指数、実質メラニン生成抑制機能収量指数が、他の天然原料に比べて非常に高い値が得られる。

さらに、実施例18、19から、本抽出物は濃縮するところで、メラニン生成抑制機能が大幅に向上することが分かった。実施例からは、水への溶解特性を利用し、水に容易に溶解する部分を除去する方法で濃縮された本抽出物は、アルブチンの10倍という、非常に強い皮膚に対するメラニン生成抑制機能が得られている。

次に、美肌効果については、実際に本発明の抽出物を配合したクリーム、化粧水、乳液等の様々な皮膚外用剤等を処方し、これを女性パネルに適用した時の評価を行った。特に、皮膚に対する抗老化効果および美白効果について評価を行った。これらの評価方法および評価結果を下記に示す。

実施例 20 クリーム：

各実施例で得た抽出物を用いて、表 5 に示す組成及び下記製法でクリームを調製し、その皮膚に対する抗老化効果を調べた。この結果も併せて表 5 に示す。

表 5

成分 (%)	本発明品						比較品	
	1	2	3	4	5	6	1	2
(1)ミツロウ	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
(2)セタノール	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
(3)還元ラノリン	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
(4)スクワラン	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0
(5)ケリセリンモノステアレート	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
(6)親油型モノステアリン酸グリセリン	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
(7)ポリオキシエチレンソルビタンモノラウリン酸エステル(20E.O.)	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
(8)実施例 1 の抽出物	0.25							
(9)実施例 3 の抽出物		0.25						
(10)実施例 5 の抽出物			0.25					
(11)実施例 13 の抽出物				0.25				
(12)実施例 14 の抽出物					0.25			
(13)実施例 16 の抽出物						0.25		
(14)比較例 1 の抽出物							0.25	
(15)防腐剤	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
(16)香料	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量
(17)精製水	残量	残量	残量	残量	残量	残量	残量	残量
抗老化 効果	有効	11	13	10	9	8	4	0
	やや有効	4	2	5	5	6	4	3
	無効	0	0	0	1	1	7	12

(製法)

A. 成分 (1) ~ (6) 及び (15) を混合し、加熱して 70℃ に保つ。

B. 成分(7)～(14)及び(17)を混合し、加熱して70℃に保つ。

C. AにBを加え、混合する。

D. 冷却しながら(16)を加えてクリームを得た。

(試験方法)

被験クリーム1品につき20～54才の女性15名をパネルとし、毎日朝と夜の2回、8週間にわたって洗顔後に被験クリームの適量を顔面に塗布した。塗布による皮膚の抗老化効果を以下の基準によって評価した。

(評価基準)

<評価>	<内 容>
------	-------

有 効	肌にはり、つやが付与された、シワ・たるみが改善された
-----	----------------------------

やや有効	肌にはり、つやがやや付与された、シワ・たるみがやや改善された
------	--------------------------------

無 効	使用前と変化なし
-----	----------

表5の結果に示される如く、本抽出物を配合した1～6のクリームは、これらを皮膚に適用することにより、肌にはり、つやが付与され、シワ・たるみを改善することができ、美しい肌とすることが明らかとなった。

これにより、本抽出物を配合した1～6のクリームは優れた皮膚の抗老化効果を有することが明らかになった。

実施例21 クリーム：

各実施例で得た抽出物を用いて、表6に示す組成及び下記製法でクリームを調製し、その美白効果を調べた。この結果も併せて表6に示す。

表 6

成分 (%)	本発明品					比較品				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
(1)ミツロウ	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
(2)セタノール	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
(3)還元ラノリン	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
(4)スクワラン	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0
(5)クマリンモノステアレート	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
(6)親油型モノステアリン酸クマリン	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
(7)α-リノレン酸トリステアリン酸モノラウリン酸エステル(20E.O.)	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
(8)ビタミンCリン酸マグネシウム						0.05				
(9)コウジ酸							0.05			
(10)アルブチン								0.05		
(11)実施例1の抽出物	0.05									
(12)実施例13の抽出物		0.05								
(13)実施例14の抽出物			0.05							
(14)実施例16の抽出物				0.05						
(15)実施例19の抽出物					0.05					
(16)比較例1の抽出物									0.05	
(17)防腐剤	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
(18)香料	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量
(19)精製水	残量	残量	残量	残量	残量	残量	残量	残量	残量	残量
美白効果	有効	9	8	12	12	15	9	9	4	0
	やや有効	4	5	3	3	0	7	4	6	1
	無効	2	2	0	0	0	3	2	5	14

## (製法)

- A. 成分(1)～(6)及び(17)を混合し、加熱して70℃に保つ。
- B. 成分(7)～(16)及び(19)を混合し、加熱して70℃に保つ。
- C. AにBを加え、混合する。
- D. 冷却しながら(16)を加えてクリームを得た。

## (試験方法)

被験クリーム1品につき27～54才の女性15名をパネルとし、毎日朝と夜の2回、12週間にわたって洗顔後に被験クリームの適量を顔面に塗布した。塗布による美白効果を以下の基準によって評価した。

## (評価基準)

## &lt;評価&gt;                      &lt;内            容&gt;

有    効    肌の色黒、シミ、ソバカス、くすみが目立たなくなった。

やや有効    肌の色黒、シミ、ソバカス、くすみがあまり目立たなくなった。

無    効    使用前と変化なし。

表6の結果に示される如く、本抽出物を配合した1～5のクリームは、これらを皮膚に適用することにより、肌の「くすみ」等の発生の防止、改善することができ、美しい肌とすることが明らかとなった。

これにより、本抽出物を配合した1～5のクリームは、アルブチン、コウジ酸、ビタミンCリン酸マグネシウム等を配合した場合と比較しても、優れた美白効果を有することが明らかになった。

## 実施例22 化粧水：

次に示す処方及び下記製法で化粧水を調製した。

(処方)	(%)
(1) グリセリン	5.0
(2) 1,3-ブチレングリコール	6.5
(3) ポリオキシエチレン(20E.O.)ソルビタンモノラウリン酸エステル	1.2
(4) エタノール	8.0
(5) 実施例1の抽出物	3.0
(6) 防腐剤	適量
(7) 香料	適量
(8) 精製水	残量



## (製法)

- A. 成分(3)、(4)、(6)及び(7)を混合溶解する。  
B. 成分(1)、(2)、(5)及び(8)を混合溶解する。  
C. AとBを混合して均一にし、化粧水を得た。

## 実施例23 乳液：

次に示す処方及び下記製法で乳液を調製した。

(処方)	(%)
(1) ポリオキシエチレン(10 E. O.) ソルビタンモノステアレート	1.0
(2) ポリオキシエチレン(60 E. O.) ソルビットテトラオレート	0.5
(3) グリセリルモノステアレート	1.0
(4) ステアリン酸	0.5
(5) ベヘニルアルコール	0.5
(6) スクワラン	8.0
(7) 実施例10の抽出物	0.05
(8) 防腐剤	0.1
(9) カルボキシビニルポリマー	0.1
(10) 水酸化ナトリウム	0.05
(11) エチルアルコール	5.0
(12) 精製水	残量
(13) 香料	適量

## (製法)

- A. 成分(8)～(12)を加熱混合し、70℃に保つ。  
 B. 成分(1)～(6)を加熱混合し、70℃に保つ。  
 C. BにAを加えて混合し、均一に乳化する。  
 D. Cを冷却後(7)、(13)を加え、均一に混合して乳液を得た。

## 実施例24 クリーム：

次に示す処方及び下記製法でクリームを調製した。

(処方)	(%)
(1) ポリオキシエチレン(40 E. O.)モノステアレート	2.0
(2) グリセリンモノステアレート(自己乳化型)	5.0
(3) ステアリン酸	5.0
(4) ベヘニルアルコール	0.5
(5) スクワラン	15.0
(6) イソオクタン酸セチル	5.0
(7) ブチルパラベン	0.1
(8) メチルパラベン	0.1
(9) 1,3-ブチレングリコール	5.0
(10) 実施例12の抽出物	0.05
(11) 精製水	残量
(12) 香料	適量

## (製法)

- A. 成分(1)～(7)を70℃にて加熱溶解する。  
 B. 成分(8)～(11)を70℃に加熱する。

C. AをBに加え、冷却しながら成分(12)を加え、クリームを得る。

実施例22の化粧水、実施例23の乳液及び実施例24のクリームはいずれも経時安定性に優れ、これらを皮膚に適用することにより、肌にはり、つやが付与され、シワ・たるみを改善することができ、また同時に、肌の「くすみ」等の発生を防止するとともに、シミ等の色素沈着も改善することができ、透明感のある美しい肌とすることが明らかとなった。

#### 実施例25 バック：

次に示す処方及び下記製法でバックを調製した。

(処方)	(%)
(1) ポリビニルアルコール	20.0
(2) エタノール	20.0
(3) グリセリン	5.0
(4) カオリン	6.0
(5) 実施例9の抽出物	0.5
(6) 防腐剤	適量
(7) 香料	適量
(8) 精製水	残量

#### (製法)

A. 成分(1)、(3)、(4)及び(8)を混合し、70℃に加熱し、攪拌する。

B. 成分(2)、(6)及び(7)を混合する。

C. 上記Bを先のAに加え、混合した後、冷却して(5)を均一に分散してバック

クを得た。

実施例25のバックは、経時安定性に優れ、これらを皮膚に適用することにより、肌にはり、つやが付与され、シワ・たるみを改善することができ、また同時に、皮膚のきめを整え、肌の「くすみ」を防止するとともに、シミ等の色素沈着も改善することができ、透明感のある美しい肌とすることが明らかとなった。

#### 実施例26 リキッドファンデーション：

次に示す処方及び下記製法でリキッドファンデーションを調製した。

(処方)	(%)
(1) ラノリン	7.0
(2) 流動パラフィン	5.0
(3) ステアリン酸	2.0
(4) セタノール	1.0
(5) グリセリン	5.0
(6) トリエタノールアミン	1.0
(7) カルボキシメチルセルロース	0.7
(8) 精製水	残量
(9) マイカ	15.0
(10) タルク	6.0
(11) 酸化チタン	3.0
(12) 着色顔料	6.0
(13) 実施例1の抽出物	0.05
(14) 紫外線吸収剤	適量
(15) 香料	適量

## (製法)

- A. 成分(1)～(4)を混合溶解する。
- B. Aに成分(9)～(12)を加え、均一に混合する。
- C. 成分(5)～(8)を均一に溶解し、70℃に保つ。
- D. BにCを添加して、均一に乳化する。
- E. Dを冷却後、成分(13)～(15)を添加してリキッドファンデーションを得た。

実施例26のリキッドファンデーションは、経時安定性に優れ、皮膚に適用することにより、日焼け等による「シワ」の発生を防止するものであった。また、肌にはり、つやが付与され、シワ・たるみを改善することができることが明らかとなった。また同時に、日焼け等による肌の黒化やシミを防止するものであった。

## 実施例27 日焼け止め用乳液：

次に示す処方及び下記製法で日焼け止め用乳液を調製した。

(処方)	(%)
(1) ステアリン酸	2.0
(2) セタノール	1.0
(3) モノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン (20E.O)	0.5
(4) セスキオレイン酸ソルビタン	0.5
(5) パラメトキシケイ皮酸-2-エチルヘキシル	8.0
(6) 2-エチルヘキサン酸セチル	12.0
(7) 1,3-ブチレングリコール	10.0
(8) カルボキシビニルポリマー	0.2
(9) トリエタノールアミン	0.5

(10) 実施例3の抽出物	0.25
(11) 精製水	残量
(12) 防腐剤	適量
(13) 酸化チタン	3.0
(14) 香料	適量

## (製法)

- A. 成分(1)～(6)を加熱混合し、75℃に保つ。  
 B. 成分(7)～(12)を加熱混合し、75℃に保つ。  
 C. AをBに徐々に加える。  
 D. Cを冷却しながら(13)～(14)を加え、日焼け止め用乳液を得た。

実施例27の日焼け止め用乳液は、経時安定性に優れ、皮膚に適用することにより、日焼け等による「シワ」の発生を防止するものであった。また、肌にはり、つやが付与され、シワ・たるみを改善することができることが明らかとなった。

## 実施例28 日焼け止め用乳液：

次に示す処方及び下記製法で日焼け止め用乳液を調製した。

(処方)	(%)
(1) ステアリン酸	2.0
(2) セタノール	1.0
(3) モノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン (20E.O)	0.5
(4) セスキオレイン酸ソルビタン	0.5
(5) パラメトキシケイ皮酸-2-エチルヘキシル	8.0
(6) 2-エチルヘキサン酸セチル	12.0

(7) 1, 3-ブチレングリコール	10.0
(8) カルボキシビニルポリマー	0.2
(9) トリエタノールアミン	0.5
(10) 実施例14の抽出物	0.05
(11) 精製水	残量
(12) 防腐剤	適量
(13) 酸化チタン	3.0
(14) 香料	適量

## (製法)

- A. 成分(1)～(6)を加熱混合し、75℃に保つ。  
 B. 成分(7)～(12)を加熱混合し、75℃に保つ。  
 C. AをBに徐々に加える。  
 D. Cを冷却しながら(13)～(14)を加え、日焼け止め用乳液を得た。

実施例28の日焼け止め用乳液は、経時安定性に優れ、皮膚に適用することにより、日焼け等による肌の黒化やシミを防止するものであった。

## 実施例29 ゲル軟膏：

次に示す処方及び下記製法でゲル軟膏を調製した。

(処方)	(%)
(1) カルボキシビニルポリマー	1.0
(2) トリエタノールアミン	1.0
(3) 1, 3-ブチレングリコール	10.0
(4) 実施例10の抽出物	0.05

(5) 精製水

残量

(製法)

A. 成分(1)及び(3)～(5)を混合溶解する。

B. Aに成分(2)を加え、混合して均一にし、ゲル軟膏を得た。

実施例29のゲル軟膏は、経時安定性に優れ、これらを皮膚に適用することにより、肌にはり、つやが付与され、シワ・たるみを改善することができ、また同時に、皮膚のきめを整え、肌の「くすみ」を防止するとともに、シミ等の色素沈着も改善することができ、透明感のある美しい肌とすることが明らかとなった。

本発明によれば、美肌効果、特に皮膚に対してハリ、ツヤを与え、シワやたるみの形成を防止する優れた皮膚の抗老化効果や、皮膚に対して色黒、シミ、ソバカス、、くすみ等を防止する優れた美白効果を有する皮膚外用剤を得ることができる、また、安定で、人体に対する安全性が高い、保存安定性に優れた皮膚外用剤を得ることができる。

更には、オリーブ植物から得られる抽出物を有効成分とする美肌剤や皮膚の抗老化剤および美白剤は、皮膚に対して直接塗布して強い皮膚の抗老化効果や美白効果を与えることも、また皮膚外用剤の原料としても使用することもできる。

さらに、オリーブ植物から容易に得ることができ、また、オリーブ油の製造工程中に発生する通常は廃棄されている生成物からも好適に得ることができることから、コスト面、安定的な供給という面、資源の有効活用という面からみても好ましい。



## 請求の範囲

1. オリーブ植物から得られる抽出物を含有する皮膚外用剤。
2. さらに、美白剤、抗酸化剤、抗炎症剤、細胞賦活剤、紫外線防止剤、血行促進剤、保湿剤からなる群から選ばれる薬効剤の一種又は二種以上を含有することを特徴とする請求項1記載の皮膚外用剤。
3. 抽出物が、オリーブ植物および／またはオリーブ油製造工程で得られる生成物を水および／または有機溶媒で抽出処理して得られたものである請求項1に記載の皮膚外用剤。
4. 抽出物が、更に濃縮処理および／または分画・精製処理されたものである請求項3に記載の皮膚外用剤。
5. 抽出物が、オリーブ植物の乾燥果実の脱脂粕を、含水アルコールを用いて抽出されたものである請求項1記載の皮膚外用剤。
6. 含水アルコールが、アルコール含量が10～95質量％であり、炭素数1～4のアルコールである請求項5記載の皮膚外用剤。
7. オリーブ植物から得られる抽出物を有効成分とする美肌剤。
8. 抽出物がオリーブ植物および／またはオリーブ油製造工程で得られる生成物を、水および／または有機溶媒で抽出処理して得られたものである請求項7に記載の美肌剤。
9. 抽出物が、更に濃縮処理および／または分画・精製処理されたものである請求項8に記載の美肌剤。
10. オリーブ植物から得られる抽出物を有効成分とする美白剤。
11. 抽出物がオリーブ植物および／またはオリーブ油製造工程で得られる生成物を、水および／または有機溶媒で抽出処理して得られたものである請求項10記載の美白剤。
12. 抽出物が、更に濃縮処理および／または分画・精製処理されたものである

請求項 1 1 に記載の美白剤。

1 3 . オリーブ植物から得られる抽出物を有効成分とする皮膚の抗老化剤。

1 4 . 抽出物が、オリーブ植物および／またはオリーブ油製造工程で得られる生成物を水および／または有機溶媒で抽出処理して得られたものである請求項 1 3 記載の皮膚の抗老化剤。

1 5 . 抽出物が、更に濃縮処理および／または分画・精製処理されたものである請求項 1 4 記載の皮膚の抗老化剤。

1 6 . オリーブ植物から得られる抽出物の皮膚外用剤としての使用。

1 7 . オリーブ植物から得られる抽出物の美肌剤としての使用。

1 8 . オリーブ植物から得られる抽出物の抗酸化剤としての使用。

1 9 . オリーブ植物から得られる抽出物の美白剤としての使用。

2 0 . オリーブ植物から得られる抽出物の皮膚に対する抗老化剤としての使用。

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/07134

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> A61K35/78, A61K45/00, A61K7/00, A61K7/02, A61K7/42, A61P17/16,  
A61P39/06

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> A61K35/78, A61K45/00, A61K7/00, A61K7/02, A61K7/42, A61P17/16,  
A61P39/06

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA (STN), BIOSIS (DIALOG), MEDLINE (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP, 8-119825, A (Ichimaru Pharcos Co., Ltd.), 14 May, 1996 (14.05.96), P4 [0009] (Family: none).	1-4, 7-15 5, 6
P, X	JP, 2000-119155, A (KOSE Corporation), 25 April, 2000 (25.04.00) (Family: none)	1-4, 13-15
P, X	JP, 11-335233, A (Ichimaru Pharcos Co., Ltd.), 07 December, 1999 (07.12.99) (Family: none)	1-4, 7-15

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
09 January, 2001 (09.01.01)

Date of mailing of the international search report  
23 January, 2001 (23.01.01)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/07134

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 16-20  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
These claims pertain to methods for treatment of the human body by therapy (PCT Rule 39.1(iv)).
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

## 第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 16-20 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、

治療による人体の処置方法に関わるものである。(PCT規則、39.1(iv))

2. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、

3. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> A61K35/78, A61K45/00, A61K7/00, A61K7/02, A61K7/42, A61P17/16, A61P39/06

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> A61K35/78, A61K45/00, A61K7/00, A61K7/02, A61K7/42, A61P17/16, A61P39/06

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN), BIOSIS (DIALOG), MEDLINE (STN)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y	JP, 8-119825, A (一丸ファルコス株式会社) 14. 5月. 1996 (14. 05. 96) P4 【0009】 参照 ファミリーなし	1-4, 7-15 5, 6
P、X	JP, 2000-119155, A (株式会社コーセー) 25. 4月. 2000 (25. 04. 00) ファ ミリーなし	1-4, 13-15
P、X	JP, 11-335233, A (一丸ファルコス株式会社) 7. 12月. 1999 (07. 12. 99) ファミリーなし	1-4, 7-15

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

09. 01. 01

国際調査報告の発送日

2301.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

鶴見 秀紀

4C

8415

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record.**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☒ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☒ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**